



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“VALIDACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS
UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO
ASCÓRBICO Y ÁCIDO FÓLICO–FORMA
FARMACÉUTICA POLVO PARA LA SUSPENSIÓN ORAL
EN GINSBERG ECUADOR S. A. MEDIANTE ANÁLISIS
DE TRAZAS”**

TESIS DE GRADO

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTOR: DARWIN JAVIER ARÍZAGA VILLA

TUTOR: BQF. DIEGO VINUEZA MSC.

RIOBAMBA – ECUADOR

2015

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“VALIDACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO Y ÁCIDO FÓLICO-POLVO PARA LA SUSPENSIÓN ORAL EN GINSBERG ECUADOR S. A. MEDIANTE ANÁLISIS DE TRAZAS”**, de responsabilidad del señor egresado DARWIN JAVIER ARÍZAGA VILLA, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Cecilia Veloz DECANO FACULTAD DE CIENCIAS	_____	_____
Dra. Ana Albuja DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
BQF. Diego Vinueza DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
BQF. Fausto Contero MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Dr. Carlos Pilamunga MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
COORDINADOR SISBIB ESPOCH	_____	_____

NOTA DE TESIS ESCRITA _____

HOJA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Darwin Javier Arízaga Villa, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO y a la EMPRESA FARMACÉUTICA GINSBERG ECUADOR S.A.

Darwin Javier Arízaga Villa

DEDICATORIA

A mi madre por su virtud de lucha diaria y constancia, que gracias a Ella soy lo que soy

Darwin Javier Arizaga Villa

AGRADECIMIENTO

A mi Madre por su esfuerzo y su confianza entregada en mí. A mi hijo Samael que es mi incentivo para seguir adelante. Al BQF. Diego Vinueza, y BQF. Fausto Contero. A la empresa GINSBERG ECUADOR S.A. que abrió la puerta para mi formación profesional

Darwin Javier Arizaga Villa

INDICE GENERAL

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

INDICE DE FOTOGRAFIAS

ÍNDICE DE ANEXOS

RESUMEN

SUMARY

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN 1

CAPITULO I

1.	MARCO TEÓRICO.....	3
1.1.	Validación	3
1.2.	Validación de limpieza.....	3
1.3.	Limpieza.....	4
1.3.1.	Objetivo de limpieza	4
1.3.1.1.	Pasos para la limpieza	5
1.3.1.1.1.	Lavado.....	5
1.3.1.1.2.	Utilización de detergentes	5
1.3.1.1.3.	Enjuague.....	5
1.3.1.1.4.	Sanitización/ desinfección.....	6
1.3.1.2.	Limpieza automatizada de equipos	6
1.3.1.2.1.	COP (Clean Out of Place)	6
1.3.1.2.2.	CIP (Clean In Place).....	6
1.3.1.3.	El personal de limpieza	6
1.3.1.3.1.	Desventajas de la ejecución de limpieza forma manual	7
1.3.1.3.2.	Recomendaciones al personal de limpieza	7
1.3.1.4.	Detergentes.....	7
1.3.1.4.1.	Las propiedades que poseen los agentes limpiadores son:	8
1.3.1.4.2.	Clasificación de Detergentes	8
1.3.1.4.2.1.	Detergentes Alcalinos.	8
1.3.1.4.2.2.	Detergentes ácidos.	8
1.3.1.4.3.	Las propiedades generales de un agente limpiador, son:	9
1.3.1.5.	Desinfectantes	9
1.3.1.5.1.	Criterios en la elección de un desinfectante	10

1.3.1.6.	Extran al 5%	10
1.3.1.6.1.	Modo de uso.....	10
1.3.1.6.2.	Concentraciones recomendadas	11
1.3.1.6.3.	El pH	11
1.3.1.7.	Alcohol 70%.....	11
1.3.1.7.1.	Propiedades físico-químicas.....	11
1.3.1.7.2.	Ventajas.....	11
1.3.1.7.3.	Desventajas	12
1.3.1.8.	Agua para uso Farmacéutico	12
1.3.1.9.	Definición de Peor Caso (Worst Case)	13
1.3.1.10.	Técnicas de Muestreo.....	14
1.3.1.10.1.	Muestreo directo de la superficie método directo o (Sawb).....	15
1.3.1.10.2.	Muestreo por enjuague (método indirecto)	15
1.3.1.10.3.	Ventajas y desventajas de hisopado Directo e Indirecto	16
1.3.1.10.3.1.	Método: Muestreo directo de la superficie (hisopo)	16
1.3.1.10.3.1.1.	Ventajas.....	16
1.3.1.10.3.1.2.	Desventajas.....	16
1.3.1.10.3.2.	Método: Muestreo indirecto de la superficie (muestras de enjuague).....	16
1.3.1.10.3.2.1.	Ventajas.....	16
1.3.1.10.3.2.2.	Desventajas.....	17
1.3.1.11.	Métodos analíticos	17
1.3.1.11.1.	Métodos Específicos	17
1.3.1.11.2.	Métodos inespecíficos	18
1.3.1.11.3.	Análisis HPLC	18
1.3.1.11.3.1.	Ventajas.....	19
1.3.1.11.3.2.	Desventajas	19
1.3.1.12.	Forma Farmacéutica.....	19
1.3.1.12.1.	Polvo.	19
1.3.1.12.1.1.	Ventajas.....	20
1.3.1.12.1.2.	Desventajas	20
1.3.1.13.	Ácido Fólico o Folatos	20
1.3.1.13.1.	Necesidades en los humanos.	21
1.3.1.13.2.	Carencia.....	21
1.3.1.14.	Vitamina C (ácido ascórbico).....	21
1.3.1.14.1.	Necesidades en los humanos	22
1.3.1.14.2.	Carencia.....	22
1.3.1.15.	Contaminación cruzada	24
1.3.1.16.	System Suitability	24
1.3.1.16.1.	Procedimiento	25
1.3.1.16.2.	Preparación para la prueba prescrita y soluciones de referencia.	25
1.3.1.16.3.	Detector	26
1.3.1.16.3.1.	Detectores espectrofotométricos	26
1.3.1.16.3.2.	Detectores de fluorescencia.....	27
1.3.1.16.3.3.	Detectores electroquímicos	27
1.3.1.16.3.4.	Detectores refractométricos.....	27
1.3.1.17.	Análisis de Trazas	28
1.3.1.17.1.	Determinación de la cantidad de Trazas	29
1.3.1.17.1.1	Especificidad	31

1.3.1.17.1.2.	Precisión.....	32
1.3.1.17.1.3.	Repetibilidad	32
1.3.1.17.1.4.	La precisión intermedia.....	32
1.3.1.17.1.5.	Reproducibilidad	32
1.3.1.17.1.6.	Linealidad.....	32
1.3.1.17.1.7.	Rango.....	33
1.3.1.17.1.8.	Robustez.....	33
1.3.1.17.1.9.	Calibración	33
1.3.1.17.2.	Condiciones preferentes para análisis de trazas	33
1.3.1.18.	Factores que afectan el análisis de trazas	34
1.3.1.18.1.	Límites	34
1.3.1.18.1.1.	Límite de Detección	34
1.3.1.18.1.2.	Límite Cuantificación.....	34
1.3.1.18.1.3.	Método basado en la relación señal/ ruido	35
1.3.1.18.1.4.	Método basado en la desviación estándar de la respuesta del blanco y la pendiente de la recta de calibrado	35
1.3.1.18.1.5.	Método basado en la extrapolación de la recta calibrado a concentración cero..	35
1.3.1.19.	Determinaciones de Límites de aceptación de residuo.	36
1.3.1.19.1.	Enfoque en la determinación de límites, puede:.....	37
1.3.1.19.2.	Criterios para la determinación de límites de aceptabilidad de residuos.....	38
1.3.1.19.3.	Aplicación de los tres criterios de aceptabilidad según la FDA dentro de Ginsberg Ecuador S.A.....	38

CAPITULO II

2.	PARTE EXPERIMENTAL	40
2.1.	Diseño experimental.....	40
2.1.1.	Características del diseño experimental	40
2.1.2.	Factores del estudio.....	40
2.1.3.	Especificidad del experimento	41
2.1.3.1.	Lugar y pruebas de ensayo	41
2.2.	Protocolo de validación.....	41
2.2.3.	Generalidades.....	41
2.2.4.	Objetivo.....	41
2.2.5.	Alcance.....	42
2.2.6.	Responsabilidades	42
2.2.7.	Características técnicas y descripción del equipo	43
2.2.8.	Procedimiento de Limpieza.....	44
2.2.9.	Descripción del procedimiento de análisis	45
2.2.10.	Requerimientos Generales.....	45
2.2.11.1.	Puntos de muestreo de superficies por hisopado.....	46
2.2.11.2.	Muestreo de superficies por hisopado	50
2.2.11.3.	Procedimiento	50
2.2.11.4.	Análisis Químico:.....	52
2.2.11.5.	Inspección visual: se utiliza como primer criterio.....	52
2.2.11.6.	Análisis de Trazas por el método HPLC	52
2.2.11.6.1.	Materiales.....	52
2.2.11.6.2.	Reactivos	52

2.2.11.6.3.	Equipos.....	52
2.2.11.7.	Procedimiento:	53
2.2.11.7.1.	Preparación de la Solución diluyente:.....	53
2.2.11.7.2.	Solución Buffer Fosfato pH: 6,4	53
2.2.11.7.3.	Solución Estándar combinado de ácido fólico y ácido ascórbico	53
2.2.11.7.4.	System Suitability	54
2.2.11.7.5.	Análisis por el método de análisis de trazas por HPLC	54
2.2.11.8.	Criterio de aceptación	54
2.2.11.9.	Resultados	55
2.2.11.10.	Acciones correctivas	55

CAPITULO III

3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
----	-----------------------------	----

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS:

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1.	Criterios de aceptación de la calidad del agua purificada.....	13
Tabla 2-1.	Ingesta recomendada de nutrientes (IRN) para vitamina c	23
Tabla 3-1.	Nivel máximo de ingesta tolerable (NM) para vitamina c.....	23
Tabla 4-1.	Ingesta recomendada de nutrientes (IRN) de ácido fólico	23
Tabla 5-1.	Nivel de ingesta tolerable máxima (NM) de ácido fólico	24
Tabla 6-1.	Detectores útiles para el análisis de trazas por cromatografía líquida. (HPLC)	28
Tabla 7-1:	Lista de requisitos	30
Tabla 8-1.	Factores de seguridad según la vía de administración	38
Tabla 9-2.	Características de la Sacheteadora Effytec	43
Tabla 10-2.	Características del mezclador Roenhardt	43
Tabla 11-2.	Características del tamizador.....	44
Tabla 12-2.	Ubicación de puntos de muestreo mezclador Roenhardt.....	46
Tabla 13-2.	Ubicación de puntos de muestreo del tamizador	46
Tabla 14-2.	Ubicación de puntos de muestreo Sacheteadora Effytec	47
Tabla 15-2.	Condiciones cromatográficas para el análisis de trazas de ácido áscórbico y ácido fólico.....	53
Tabla 16-3.	Resumen de resultados.....	74

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No 1-3.	Cálculo teórico de concentraciones, áreas. Para el límite de	56
Cuadro No 2-3.	Cálculo teórico desviación estándar. Para el límite de detección y cuantificación de ácido ascórbico.	56
Cuadro No 3-3.	Linealidad de la concentración vs áreas de ácido ascórbico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC)	57
Cuadro..No 4-3	Desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido ascórbico.....	58
Cuadro No 5-3.	Calculo teórico de concentraciones, áreas, para el límite de detección	59
Cuadro No 6-3.	Cálculo teórico desviación estándar. Para el límite de detección y cuantificación de ácido fólico	59
Cuaddro No 7-3	Linealidad de la concentración vs áreas de ácido fólico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC)	60
Cuadro No..8-3	Desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido fólico.....	61
Cuadro No 9-3.	Análisis químico del estándar de ácido ascórbico y ácido fólico: primer muestreo, segundo muestreo y tercer muestreo promedio de las áreas obtenidas durante cada inyección. Realizado en el laboratorio de control de calidad, laboratorio farmacéutico Ginsberg Ecuador S.A. Quito, 2014.....	62

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Grafico No 1-2.	Linealidad de ácido ascórbico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC).....	57
Gráfico No 2-3.	Curva de la desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido ascórbico.....	58
Gráfico No 3-3.	Linealidad de ácido fólico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación LOC).....	60
Gráfico No 4-3.	Curva de la desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido fólico.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Estructurada química del ácido fólico	20
Figura 2-1.	Estructurada química del ácido ascórbico	21
Figura 3-1.	Puntos de muestreo de la sacheteadora	47
Figura 4-2.	Puntos de muestreo del tambor y el tamizador.....	49
Figura 5-2.	Esquema de hisopado.....	51
Figura 6-2.	Forma de recolección de las muestras en los viales.	51
Figura 7-3	Cromatogramas del análisis de trazas	63

ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

Fotografía 1-2:	Sacheteadora ubicado en la zona no estéril del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A.....	43
Fotografía 2-2:	Mezclador Roenhardt ubicado en la zona no estéril del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A.	43
Fotografía 3-2:	Tamizador ubicado en la zona no estéril del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A.	44
Fotografía 4	Proceso de muestreado por el método de hisopado directo	

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A:** Equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) SHIMADZU ubicado en el área de control de calidad
- Anexo B:** Fase móvil buffer fosfato pH 6,4: metanol (88:12)
- Anexo C:** Columna GEMINI-NX C18 5µM 4.6 X 50mm
- Anexo D:** Estándares de ácido fólico y ácido ascórbico (USP)
- Anexo E:** Viales Waters Srew Top Vial, 12 X 32mm
- Anexo F:** Inspección visual de equipo desmontado Sacheteadora Effytec
- Anexo G:** Inspección visual de equipo desmontado Mezclador Roenhardt (Tambor)
- Anexo H:** Inspección visual del Tamizador
- Anexo I:** Hisopos de muestreo Large Alpha
- Anexo J:** Viales prelavados libres de carbono para uso de TOC con 30ml agua tipo reactivo para determinación de toc (conductividad < 1µs, TOC<0,100 ppmc))

RESUMEN

Se verificó la limpieza de los equipos de manufactura de ácido ascórbico y ácido fólico –forma farmacéutica polvo para suspensión oral mediante el análisis de trazas de estos componentes, luego de una producción regular, en Ginsberg Ecuador S.A planta Quito, para evitar problemas de contaminación cruzada por presencia sobre los límites aceptables de residuos de API's ajenos a un producto en particular. Se estableció puntos críticos de muestreo para cada uno de los equipos (swabbing), se aplicó tres criterios de aceptación de residuos (FDA) utilizados dentro de la empresa y como método de análisis cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para la determinación de trazas, conjuntamente con el método analítico validado para la determinación de ácido ascórbico y ácido fólico preliminarmente efectuado. Los resultados obtenidos de cada punto crítico de los equipos muestreados de tres lotes reflejan que no pueden ser cuantificados por el equipo debido a que el tiempo de retención corresponden a una polaridad negativa, por lo que se asume que las concentraciones de ácido ascórbico y ácido fólico son inferiores a los límites de cuantificación teóricos para ácido ascórbico 1.2×10^{-6} mg/mL y ácido fólico 5×10^{-8} mg/mL. Para conocer el límite de aceptación de residuos se aplicó tres criterios de aceptación, de los cuales se eligió el más exigente el primer criterio para ácido Fólico de 0.001 mg y para el ácido ascórbico el tercer criterio 0.4 mg. En conclusión las concentraciones de trazas se encuentran inferiores al límite de aceptación de residuos. Se concluye que los equipos se encuentran completamente limpios y son seguros para la producción de un diferente producto o un subsecuente lote.

<CONCENTRACIÓN ><LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN><LÍMITE DE DETECCIÓN> <ACEPTACIÓN DE RESIDUOS> <MUESTREO> <INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO> <ÁCIDO FÓLICO ><ÁCIDO ASCÓRBICO> <EQUIPO DE MANUFACTURA ><LIMPIEZA DE EQUIPOS >

SUMARY

The cleaning of ascorbic acid and folic acid manufacturing equipment was verified - pharmaceutical dosage form powder for oral suspension by analyzing traces of these components, after regular production, in Ginsberg Ecuador S.A in Quito, to avoid cross contamination problems by presence on acceptable residue limits of API □ s unrelated to a particular product. Critical sampling points for each of the equipment (swabbing) were established, three acceptance criteria of waste (FDA) used in the company were applied, and as a method of High-perfomance liquid chromatography (HPLC) for trace determinations, and in conjunction with the validate analytical method for determining ascorbic acid and folic acid performed preliminarily. The obtained results of each critical point of sampled equipment of three sets reflect that they can not be quantified by the equipment due to these retention time correspond to a negative polarity, so it is assumed that the concentrations of ascorbic acid and folic acid are lower than theoretical limits of quantification for ascorbic acid 1.2×10^{-6} mg/mL and folic acid 5×10^{-8} mg/mL. In order to know the waste acceptance limit. It was applied three acceptance criteria from these the most demanding, the first criterion to folic acid 0.001 mg and the third criterion to ascorbic acid 0.4 mg. In conclusion, trace concentrations are below the limit of waste acceptance. We conclude that the equipment are completely clean and they are safe to produce a different product or a subsequent set.

<CONCENTRATION> <LIMIT OF QUANTITATION> <DETECTION LIMIT> <WASTE
ACCEPTANCE> <SAMPLE> <ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT>
<ASCORBIC ACID> <FOLIC ACID> < MANUFACTURING EQUIPMENT > <
EQUIPMENT CLEANING>

INTRODUCCIÓN

En la actualidad las agencias reguladoras emiten documentos que exigen cada vez más la obtención de pruebas que demuestren la validación del proceso de limpieza en la fabricación de un medicamento; lo que nos proporciona un alto grado de confianza y seguridad en los resultados de dicho proceso. (Martínez, M L., y otros, 2001)

Por lo tanto productos farmacéuticos y sus API's pueden ser contaminados por otros productos farmacéuticos e ingredientes activos, por agentes de limpieza, por microorganismos u otros materiales, etc. Esto se debe a que muchos de los mismos equipos son utilizados para la producción de diferentes productos, subsecuentes por lo cual no es solo un buen proceso de limpieza sino un proceso de análisis de residuos. (López, M., & Pierre, A., 2005)

Para minimizar este riesgo la Food and Drug Administration (FDA) hizo más énfasis en la limpieza y análisis. En julio de 1993 apareció en la guía de inspección de la FDA una revisión sobre validación de limpieza. Por lo tanto es requerido por la FDA que el proceso de validación de limpieza para ser aprobado este debe cumplir con los criterios de aceptación. (Lakshmana S., & Suriyaprakash T.N.K., 2010)

En ella se exige que las compañías tuvieran por escrito el procedimiento general del proceso de limpieza que sería validado, donde debían estar indicados también el procedimiento de muestreo y el método analítico usado en la cuantificación del residuo de principio activo. (López, M., & Pierre, A., 2005)

Los métodos analíticos utilizados para determinar residuos de ingrediente farmacéutico activo (API) o contaminantes deben ser específicos. De tal manera que para el análisis de residuos la FDA proponen que los métodos analíticos sean específicos como la cromatografía de alta eficiencia (HPLC) que detecta el componente específico en una muestra, mientras que los métodos no específicos son aquellos que detectan cualquier compuesto que produce una cierta respuesta Ejemplo: carbono orgánico total (TOC), pH y conductividad. (Lakshmana S., & Suriyaprakash T.N.K., 2010)

Debido a los problemas presentados a la hora de la producción de diferentes productos farmacéuticos en un mismo equipo y el riesgo de contaminación cruzada de un producto elaborado con otro a producirse dependerá este de la limpieza del mismo, cuya efectución es realizada por operarios de forma manual de acuerdo al el proceso de validación de limpieza.

Para garantizar el proceso de producción, dar confianza y seguridad a sus productos y presentar pruebas documentadas a las diferentes agencias de regulación nacional, como el ministerio de salud pública (MSP), y la agencia reguladora de control y vigilancia sanitaria (ARCSA), E internacional, como la organización mundial de la salud (OMS) y FDA, y así dar paso a certificaciones de calidad.

El laboratorio farmacéutico Ginsberg S.A. hace mención, que para estar a fin con las diferentes instituciones reguladoras se realizará el proyecto de tesis conjuntamente con el método analítico validado de ácido ascórbico + ácido fólico la “VALIDACIÓN DE LIMPIEZA DE EQUIPOS UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO Y ÁCIDO FÓLICO–FORMA FARMACÉUTICA POLVO PARA LA SUSPENSIÓN ORAL EN GINSBERG ECUADOR S.A. MEDIANTE ANÁLISIS DE TRAZAS”, cuya finalidad es dar una prueba que el proceso de limpieza de sus equipos está siendo realizado correctamente y estos son seguros para la elaboración del siguiente producto subsecuente.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Validación

La validación constituye una parte esencial para la prácticas adecuadas de fabricación (PAF) la misma que debe realizarse con protocolos definidos con anterioridad, estas deberían ser documentadas y archivadas en un informe que resuman los resultados y las conclusiones registradas, se someterán periódicamente a una revalidación para asegurar que se pueden seguir obteniendo los resultados deseados. Se debe prestar especial atención a la validación de los procedimientos de procesado, pruebas y limpieza. (OMS, 1992)

Acción de comprobar y documentar que cualquier proceso, procedimiento o método, conduce efectiva y consistentemente a los resultados esperados. (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

1.2. Validación de limpieza

La validación de limpieza es la prueba documentada de que un procedimiento aprobado proporcionará equipos adecuados para la elaboración de medicamentos. (Agencia española de medicamentos y productos Sanitarios, 2000)

La validación de limpieza es un parte importante en la producción de medicamentos, por lo que es esencial para garantizar la calidad en la manufacturación de los productos farmacéuticos, quien asegura que el o los residuos que permanecen en la superficie de un equipo luego de aplicar la limpieza establecida en los procedimientos normalizados de operación, se encuentre dentro de límite de aceptabilidad permisible.

La validación de la limpieza se centra en la identificación y caracterización de los residuos (ingrediente farmacéutico activo, excipientes, productos de degradación, preservantes, agentes de limpieza, microorganismos, etc.), selección de los criterios para el cálculo del límite

aceptable de residuo, selección y validación del método de muestreo, selección y validación del método analítico para la determinación de los residuos, selección y validación del procedimiento de limpieza, elaboración del informe final y de las instrucciones operacionales. (López, M., & Pierre, A., 2005)

1.3. Limpieza

Se entiende por limpieza como el proceso de empleo correcto de productos químicos (Antimicrobianos) en una secuencia dada para disminuir la suciedad y los agentes contaminantes de forma que no se afecte la calidad del producto; teniendo en cuenta los factores que influyen directamente como la concentración, temperatura, tiempo de exposición y utilización de herramientas. Para realizar la limpieza se utilizan los agentes químicos anteriormente mencionados que disminuyen la carga residual y microbiana a límites aceptables. Esta última puede ser neutralizada inhibiendo el crecimiento bacteriano con agentes bacteriostáticos o eliminándolos con los agentes bactericidas. (Forero R. & Navarrete D., 2008)

1.3.1. *Objetivo de limpieza*

Hoy en día dentro del mundo de la industria farmacéutica, la limpieza es un control, papel importante y decisivo dentro de la verificación de la calidad de sus productos, incluyendo la prevención de posible contaminación y contaminación cruzada de materia prima y productos farmacéuticos, por lo tanto la manera de garantizar la calidad de los productos en la industria es mediante la limpieza.

Para poder entender un poco a que se dirige la limpieza en la industria farmacéutica, es importante tener una idea previa de ¿qué es la limpieza en general, en cuanto a ambientes industriales se requiere tanto de limpieza como de la desinfección.

Según la norma AFNOR “limpieza es una operación que consiste en extraer de una superficie dada toda la suciedad visible o invisible que pueda contener” las operaciones de limpiezas están encargadas de eliminar todo rastro de suciedad o contaminación y garantizar que no exista un contaminación cruzada.

Tanto la suciedad o la infección se deberá quitar, muchas veces invisibles a nuestros ojos, lo cual no quiere decir que no se deba realizar ambas al mismo tiempo, por lo cual se sugiere primero hacer un limpieza profunda y luego una desinfección.

En todos los casos, como superficies de trabajo y equipo que se encuentran en contacto con los productos que se fabrican son vehículos de potencial de contaminación directa entre los productos y se debe por lo tanto tener una adecuada limpieza de los mismos. (Rodríguez A., 2010)

1.3.1.1. *Pasos para la limpieza*

Con el fin de realizar un buen proceso de limpieza se deben seguir cierto orden básico citado a continuación:

1.3.1.1.1. *Lavado*

Esta etapa contiene dos acciones independientes que casualmente se logran ejecutarse conjuntamente. La primera acción radica en remover en seco la mayor parte de los residuos, polvo y suciedad, mediante cepillos o escobas designados para tal fin. La segunda acción radica en realizar un enjuague inicial con agua caliente. Se puede utilizar alta presión para que la acción mecánica ayude a desprender los residuos con alto contenido en proteína, grasas así como agentes de difícil remoción. El prelavado debe realizarse empezando por las partes más altas del equipo y continuando hacia abajo.

1.3.1.1.2. *Utilización de detergentes*

Los detergentes tienen la capacidad de desprender las partículas de las superficies y mantenerlas suspendidas en agua a fin de que se puedan enjuagar, éstos pueden ser no iónicos, catiónicos o aniónicos -que son los más comúnmente usados. Existen diversos tipos de detergentes o limpiadores que se prefiere son en función del tipo de suciedad a remover, pero lo importante es recordar que los limpiadores ácidos disuelven componentes alcalinos, y que los limpiadores alcalinos disuelven restos de alimentos y componentes ácidos.

1.3.1.1.3. *Enjuague*

Una vez que el detergente ha estado en contacto con las superficies por el tiempo recomendado, la mezcla de detergente y residuos suspendidos debe ser removida mediante un enjuague exhaustivo con agua. Antes de proceder al siguiente paso es necesario asegurarse de que los detergentes hayan sido removidos en su totalidad.

1.3.1.1.4. Sanitización/ desinfección

La sanitización o desinfección se puede alcanzar mediante la aplicación de métodos físicos o químicos. Los métodos físicos incluyen la aplicación de calor en forma de agua caliente o vapor, y son relativamente ineficientes. Los desinfectantes químicos son los más frecuentemente usados en la industria farmacéutica debido a su versatilidad y eficiencia. (Castellanos. V., 2012)

1.3.1.2. Limpieza automatizada de equipos

1.3.1.2.1. COP (Clean Out of Place)

Sistema automático o semi-automático de limpieza que exige un desarme parcial de los componentes mayores de los equipo, estas son llevadas a cuartos de lavado en donde un tanque lava las partes por ciclos, manejando diferentes agentes de limpieza (detergentes y desinfectantes) a presión y a una temperatura determinada. Hoy por hoy es utilizado esencialmente en industrias farmacéuticas, nutracéuticas y de alimentos. Este tipo de limpieza minimiza los riesgos de contaminación debido a que no hay contacto directo con el operario durante el proceso.

1.3.1.2.2. CIP (Clean In Place)

El sistema Clean In Place (Limpieza in situ) es un proceso automático, reproducible, con un lavado y enjuague confiable de las soluciones de limpieza a través de los equipos y tuberías del área de manufactura; hasta el momento ha demostrado que mejora tanto la calidad del producto como la limpieza de los equipos y la planta. Además, este sistema tiene la capacidad de limpiar sin necesidad de desmontar la totalidad de las partes de un equipo, es un sistema integrado de: tanque, válvulas, filtros, unidades de intercambio de calor, tuberías, entre otros. Este sistema evita la mano de obra (limpieza manual) y tiempo; además, garantiza la limpieza y desinfección con relación a la limpieza manual. (Castellanos. V., 2012)

1.3.1.3. El personal de limpieza

El personal de limpieza debe ser una persona capacitada, un empleado permanente e independiente de la producción para ejecutar el procedimiento de limpieza. .

Por lo cual uno de los grandes errores dentro de la limpieza y desinfección de equipos y utensilios es el designar aun persona de más bajo nivel, sin un previo conocimiento, autoridad moral y sin entrenamiento alguno.(Hidalgo. A., 2010)

1.3.1.3.1. *Desventajas de la ejecución de limpieza forma manual*

- No es factible ni reproducible
- Variaciones de la ejecución cuando no son observados
- Debido al tiempo modificación de la limpieza y desorden
- Distracción durante la ejecución. (Hidalgo. A., 2010)

1.3.1.3.2. *Recomendaciones al personal de limpieza*

- Seguir el proceso de limpieza según proceso de validación
- No se recomienda utilizara aire comprimido para remover sólidos de la superficies, debido a su aspiración de los mismo en el aire y prevenir una intoxicación
- Se recomienda remojar y remover en húmedo las partes del equipo desmontadas para evitar aspiración alguna de polvos. (Hidalgo. A., 2010)

1.3.1.4. *Detergentes*

Los detergentes son sustancias tensoactivos que se usan para quitar la suciedad de cualquier superficie. La detergencia es un proceso complejo, que para separar sustancias extrañas de la superficie realiza acciones como el mojar, inicialmente, la suciedad y la superficie que va a ser limpiada, la defloculación y suspensión de las partículas de suciedad y algunas veces la formación de la espuma para extraer y eliminar la suciedad sin que afecte el material sometido a este proceso, limpia sin generar corrosión. (Secretaria de Salud Subsecretaria de Regulación y Fomento, 1999)

El fabricante debe conocer la composición del detergente que se expende, si la misma no tiene la información suficiente que demuestre su composición, se seleccionara otro detergente cuya composición este bien definida.

Pueden ser desde agua pura hasta soluciones con detergentes y otras sustancias llamadas aditivos que ayudan a la remoción del sustrato. Los agentes limpiadores usan una combinación de propiedades físicas y químicas para eliminar contaminantes de sustrato. (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

1.3.1.4.1. *Las propiedades que poseen los agentes limpiadores son:*

- Humectación: Es la capacidad que tiene una sustancia en mojar y abarca gran área de contacto
Penetración: La capacidad de una sustancia en penetrar y remover la suciedad
- Emulsión: Es la dispersión o suspensión de finas partículas de uno o más líquidos en otro líquido. Por ejemplo el aceite o grasa en agua.
- Suspensión: Consiste en dejar la suciedad o partículas de suciedad en solución, evitando que estas se vuelvan a re depositar.(Castellanos V., 2012)

1.3.1.4.2. *Clasificación de Detergentes.*

La naturaleza del trabajo y la limpieza a efectuarse deben servir como guía para la elección del agente limpiador que se debe utilizar. Los detergentes se clasifican en:

1.3.1.4.2.1. *Detergentes Alcalinos.*

Un indicador de estos detergentes es su alcalinidad actividad. Los más usados son la sosa caustica o (hidróxido de sodio), el hidróxido de potasio que conjuntamente con sales de silicatos ayudan a que el metal no se desgaste. Por lo cual una porción de su misma alcalinidad puede reaccionar para la saponificar grasas y la otra porción para la neutralización los ácidos del producto de tal manera que conserve la concentración de los iones hidrógeno (pH) de la solución a un nivel adecuado para la separación efectiva de las partículas de suciedad y proteger y evitar la corrosión del equipo. (Secretaria de Salud Subsecretaria de Regulación y Fomento, 1999)

1.3.1.4.2.2. *Detergentes ácidos.*

Los detergentes ácidos orgánicos como el ácido Glucónico, ácido cítrico, e inorgánicos como el ácido sulfónico, ácido fosfórico, se consideran un excelente limpiadores de los recipientes de almacenamiento, clarificadores, tanques de pesaje y otros equipos y utensilios. El uso de estos limpiadores más alcalinos ayuda a eliminar los malos olores y disminución microbiana.

La idea de aplicar una solución de detergente es la desprender la capa de suciedad y microorganismos y mantenerlos en suspensión. Para que el enjuague elimine la suciedad desprendida y los residuos de detergentes. (Secretaria de Salud Subsecretaria de Regulación y Fomento, 1999)

1.3.1.4.3. *Las propiedades generales de un agente limpiador, son:*

- Completa y rápida solubilidad.
- No ser corrosivo a superficies metálicas.
- Brindar completo ablandamiento del agua, o tener capacidad para acondicionar la misma.
- Excelente acción humectante.
- Excelente acción emulsionante de la grasa.
- Excelente acción solvente de los sólidos que se desean limpiar.
- Excelente dispersión o suspensión.
- Excelentes propiedades de enjuague.
- Acción germicida.
- Bajo precio.
- No tóxico. (Secretaría de Salud Subsecretaría de Regulación y Fomento, 1999)

1.3.1.5. *Desinfectantes*

Según la FDA, un desinfectante de alto nivel es un compuesto sintético que vertido sobre material vivo o inerte actúa alterando lo menos posible el material donde residen, destruye en 10-15 minutos todo microorganismo patógeno como bacterias, hongos y virus, excluyendo el virus de la Hepatitis B.

Según la OMS un desinfectante es un agente químico que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulada. (Instituto Nacional de Gestión Sanitaria, 2013)

Los desinfectantes son bacteriostáticos ya que estos no matan en sí todo sino que reducen a un nivel que no dañe la salud ni la calidad de los bienes perecederos.

Los desinfectantes se aplican sobre objetos y materiales inanimados, como instrumentos y superficies, para tratar y prevenir la infección. (OMS, 2004)

Un desinfectante deben seleccionarse considerando que microorganismos se desea eliminar, el producto que se va elaborar y el material de las superficies que entran en contacto con el producto. La elección depende también del tipo de agua disponible y el método de limpieza empleado. (Secretaría de Salud Subsecretaría de Regulación y Fomento, 1999)

Un desinfectante debe eliminar por lo menos un 99.999% (5 unidades logarítmicas) de patógenos bacterianos en un tiempo de 5 a 10 minutos, no necesariamente destruye bacterias esporo formadoras o virus. (Forero R. & Navarrete D., 2008)

1.3.1.5.1. Criterios en la elección de un desinfectante

Un desinfectante ideal deberá tener las siguientes características:

- Ser fácil de usar (facilita el cumplimiento de los protocolos alcanzando mayor eficacia).
- Que no se necesite protección especial (ej.: guantes).
- No tóxico (no volátil).
- Capaz de remover la suciedad
- Olor agradable.
- No dañe el material u oxide.
- Sea seguro.
- Cuide el medio ambiente y el medio laboral sea orgánico.(Instituto Nacional De Gestión Sanitaria, 2013)

1.3.1.6. Extran al 5%

Es un detergente que en su composición tiene surfactantes aniónicos y no iónicos, fosfatos y bajas concentraciones de excipientes los diferentes detergentes de Extran que se utiliza para limpieza manual son concentrados que se utilizan para la preparación de baños de limpieza acuosos para un remoción completa de partículas extrañas (suciedad).

1.3.1.6.1. Modo de uso

Para preparar las soluciones de Extran se recomienda usar agua desmineralizada o purificada ya que actúan facilita su mejor remoción y potenciando el efecto limpiador del detergente (Extran). Si la dureza del agua tiende a precipitarse se debiera agregar Extran adicional. (Merck KGaA, 2004)

- Sumerja el material a lavar en la solución y remueva la suciedad
- Para eliminar el detergente, enjuague con agua potable y luego con agua purificada.

1.3.1.6.2. Concentraciones recomendadas

Su concentración óptima dependerá de la dureza del agua que se use y la intensidad de contaminación, por lo cual se recomienda las siguientes concentraciones. (Merck KGaA, 2004)

- Contaminación normal: 2%
- Contaminación difícil: 5%
- Contaminación muy difícil: hasta 20%

1.3.1.6.3. El pH

Deberá ser:

- Solución al 2%: pH =11.6
- Solución al 5%: pH =12.0 (Merck KGaA, 2004)

1.3.1.7. Alcohol 70%

Desde más de 40 años, el alcohol al 70% es conocido como la óptima concentración que tiene propiedades desinfectantes. Su uso es de acuerdo a los procedimientos de limpieza establecidos por la institución. (Castellanos V., 2012)

1.3.1.7.1. Propiedades físico-químicas

Es un líquido incoloro y transparente, libre de sedimento y partículas extrañas en suspensión. Volátil e inflamable. Es una sustancia capaz de absorber humedad del medio circundante y miscible con agua, diclorometano y cloroformo.

La acción bactericida de los alcoholes mejora a medida que aumenta su cadena incluso aquellos con ocho y diez átomos de carbono (C8- C10), de igual manera alcoholes con cadena muy largas de C10 disminuyen su solubilidad en agua y efecto. (Castellanos V., 2012)

1.3.1.7.2. Ventajas

- Acción bactericida,
- No daña el, metal (no corrosivo),
- Económico,
- No deja residuos químicos el cual requiera enjuague.

1.3.1.7.3. Desventajas

- Volátil
- Inactivación de proteínas de interés en materia orgánica
- Formación de complejos inertes o poco activos con proteínas extrañas

1.3.1.8. Agua para uso Farmacéutico

EL agua purificada (PW) debe ser preparado a partir de una fuente de agua potable como agua de alimentación de gran calidad mínimo, deben cumplir con la farmacopea especificaciones de pureza química y microbiológica, y deben ser protegidos de la recontaminación y la proliferación microbiana.

El agua purificada se utiliza como excipiente en la producción de preparaciones parenterales y en otras aplicaciones farmacéuticas, tales como la limpieza de ciertos equipos y componentes en contacto con el producto no parenteral.

A menos que se especifique lo contrario, el agua purificada está también destinada a ser utilizado para todas las pruebas y ensayos para los que está indicado. EL agua purificada debe cumplir con los requisitos de pureza química iónica y orgánica y ser protegida de la contaminación microbiana.

La fuente de producción de agua purificada es el agua potable. Esta fuente de agua puede purificarse usando operaciones unitarias que incluyen desionización, destilación, intercambio iónico, ósmosis inversa, filtración, u otros procedimientos de purificación adecuados. Los sistemas de agua purificada deberán ser validados para su fiabilidad y consistente producción y distribución de agua aceptable y de calidad microbiológica. (WHO, 2005)

Ya que los sistemas de agua funcionan en condiciones ambientales estos son susceptibles a formar un bio-film o una capa de microbiana, que puede ser la fuente de un nivel indeseable de microorganismos o endotoxinas. Por lo tanto estos sistemas requieren una desinfección habitual y completa, un control y vigilancia microbiológica para asegurar su calidad microbiológica conforme en sus puntos de uso. (USP30–NF25, 2008)

El agua que ingresa a la planta GINSBERG S.A. proviene de la red urbana de agua Potable; por ende, cumple con los requisitos de la norma INEN y de la OMS.

Tabla 1-1. Criterios de aceptación de la calidad del agua purificada

ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO	
Aspecto	Líquido transparente, incoloro, inodoro
Conductividad	< 1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (a 25°C)
pH	5, 0 - 7,0
Sólidos totales	< 10 ppm
Hierro	< 0,056 ppm
Sílice	0 ppm
TOC	< 500 ppb
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	
Bacterias totales	Límite acción 100 ufc/mL Límite alerta 50 ufc/mL
Hongos totales	Límite acción 100 ufc/mL Límite alerta 50 ufc/MI

Fuente: INEN 1108 1983-12 Norma Ecu. ; Agua Potable, Requisitos / Informe 39, Anexo 3: “WHO Good Manufacturing Practices: wáter for pharmaceutical use” pág. 55; 2005.

1.3.1.9. Definición de Peor Caso (Worst Case)

El peor caso en una situación algo hipotética, donde se da una idea a la peor situación que podría pasar durante la producción respecto a la criticidad de la limpieza. El peor caso está formado por el contaminante (producto a manipularse durante la producción y que podría contaminar al siguiente) y el siguiente (producto que al ser contaminado llevaría al paciente a una dosificación mayor del contaminante en cuestión).

El mejor contaminante es aquel que contiene la mejor combinación de las siguientes propiedades

- Menor solubilidad en el solvente utilizado para el proceso de limpieza.
- Dificultad para ser removido de acuerdo a la experiencia de los operadores.
- Mayor toxicidad.
- Menor dosis terapéutica. (GGIMP, 2006)

La característica que se observa en un contaminante es su solubilidad. La selección del menos soluble es suficiente como criterio. Otros criterios pueden ser evaluados, pero dentro de un sistema de puntuación donde la solubilidad tiene mayor ponderación dentro de otros criterios.

El mejor producto siguiente a ser afectado es aquel que presenta el menor valor para la razón:

- Menor tamaño de lote
- Menor dosis terapéutica
- La adopción de plantillas electrónicas facilita la determinación del peor caso.

La empresa puede optar con la elección de un peor caso imaginario, pero no toma en cuenta el producto siguiente a elaborarse sino un imaginario que tenga las peores cualidades posibles, o sea, tal producto siguiente imaginario tendrá un tamaño de lote menor y una mayor dosis terapéutica, un hecho que no siempre está asociado en un mismo producto.

Tal criterio, aunque parece demasiado prudente, sirve para construir un estudio de validación de limpieza robusto, que en el futuro soporte la inclusión de nuevos productos o tamaños de lote en la ruta de fabricación, sin que haya la necesidad de realizar de nuevo la validación. (GGIMP, 2006)

1.3.1.10. *Técnicas de Muestreo*

Regularmente los equipos utilizados deberán ser limpiados tan rápido como sea posible después de que se hayan utilizados. Esto puede ser indispensable para posteriores producciones con productos tópicos, suspensiones y graneles o cuando un producto anterior se haya fabricado y sus residuos secos afecte directamente la eficiencia de un procedimiento de limpieza.

Los métodos más aceptables dentro de un proceso de muestreo son dos: muestreo directo de las superficies y muestreo por enjuague. Por lo general lo más deseable es combinar los dos métodos.

No se debería realizar un remuestreo antes o durante la limpieza y operaciones, y sólo es aceptable en casos excepcionales. Un constante e insistente reanálisis y remuestreo puede indicar que el proceso de limpieza no está validado, porque en realidad estos reanálisis documentan la presencia de residuos y contaminantes inaceptables, que resultan de un proceso de limpieza ineficaz. (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

1.3.1.10.1. Muestreo directo de la superficie método directo o (Sawb)

El método de muestreo directo es realizado más comúnmente, el cual implica la utilización de un material inerte (por ejemplo, algodón hidrófilo) en la parte extrema de la asa (un hisopo) el cual se frotara de acuerdo al método en la superficie de tipo de material o equipo a analizar.

Es importante el tipo de material de muestreo utilizado y su posible impacto en los resultados de los análisis, ya que este puede interferir con el análisis. (Por ejemplo, se ha encontrado que el adhesivo utilizado en los hisopos interfiere con el análisis de las muestras.)

Los factores que deben ser considerados: Son el proveedor del hisopo, el área hisopada, número de hisopos utilizados, si éstos son hisopos húmedos o secos, manipulación de los hisopos y las técnicas de hisopado. (GGIMP, 2006)

Para establecer la ubicación de los puntos de muestreos se debe considerar la composición de los equipos (por ejemplo vidrio o acero) y donde se encuentran ubicados (por ejemplo, aspas, paredes de estanques o accesorios (fittings)). Se deben considerar las ubicaciones “peor caso” el protocolo debe identificar la ubicación de los puntos de muestreo.

El medio de muestreo y el solvente utilizado deben ser adecuados para su propósito. (GGIMP, 2006)

1.3.1.10.2. Muestreo por enjuague (método indirecto)

Este método permite la toma de muestras de una gran superficie, de zonas que son inaccesibles o que no pueden ser desmontadas rutinariamente y proporciona una visión general. Las muestras de enjuague pueden entregar evidencia suficiente de una limpieza adecuada cuando la accesibilidad a las piezas de los equipos impide el muestreo directo de la superficie, y puede ser útil para verificar los residuos de los agentes de limpieza, por ejemplo, detergentes.

Las muestras de enjuague deben ser utilizadas en combinación con otros métodos de muestreo tales como el muestreo directo de superficie. (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

Debe existir evidencia que las muestras son recuperadas con exactitud. Por ejemplo, una recuperación de más del 80% es considerada buena, mayor al 50% es razonable y menor al 50%

no es aceptable. (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

1.3.1.10.3. Ventajas y desventajas de hisopado Directo e Indirecto

1.3.1.10.3.1. Método: Muestreo directo de la superficie (hisopo)

1.3.1.10.3.1.1. Ventajas

- Residuos secos e insolubles pueden ser retirados.
- Permite el establecimiento del nivel de contaminación por área, estableciendo el nivel de contaminación por área, estableciendo donde el procedimiento necesita ser mejorado y si realmente los puntos críticos corresponden a las expectativas.
- Permite la recuperación del contaminante a partir de áreas donde el agua de enjuague tiene contacto deficiente. (GGIMP, 2006)

1.3.1.10.3.1.2. Desventajas

- El área a ser muestreada debe permitir el libre acceso al operador, y que es impráctico en muchos equipos.
- El solvente y el material del hisopo no deben ser fuente de contaminación adicional o interferir en la metodología analítica.
- El porcentaje de recuperación del activo por parte del hisopo debe ser establecido utilizando un estudio de recobro del activo por parte del hisopo que mimetice exactamente el procedimiento utilizado en la práctica. (Mismo hisopo, placa con el mismo tipo de acero del equipo, definición de área).
- La posible interferencia del material del hisopo debe ser evaluada durante el estudio de validación de la metodología analítica. (GGIMP, 2006)

1.3.1.10.3.2. Método: Muestreo indirecto de la superficie (muestras de enjuague)

1.3.1.10.3.2.1. Ventajas

- Permite el muestreo de grandes áreas.
- Permite el muestreo de áreas de difícil acceso como boquillas de envase, tuberías y pequeñas piezas. (GGIMP, 2006)

1.3.1.10.3.2.2. Desventajas

- Causa la dilución del contaminante, lo que veces compromete o imposibilita el desempeño de la metodología analítica.
- El contaminante puede no ser soluble en el solvente utilizado.
- El contaminante puede estar ocluido o adherido en alguna superficie, de modo que un simple enjuague no es capaz de retirarlo. La metodología analítica utilizada debe ser específica para el contaminante, métodos no específicos como la adopción del criterio farmacopeico para el agua utilizada en enjuagues no son aceptables. (GGIMP, 2006)

1.3.1.11. Métodos analíticos

Los métodos analíticos se han desarrollados para cerciorarse que los ingredientes y suplementos estén dentro de las especificaciones establecidas. Las metodologías analíticas deben ser validadas antes de realizar la validación de la limpieza. (Forero V., & Navarrete D., 2008).

En un nivel de limpieza apropiado, las metodologías seleccionadas deben detectar residuos o contaminantes específicos de la (s) sustancia (s) que se están analizando (sensibilidad). (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

Las muestras deben poder ser cuantificadas por métodos analíticos validados ya sea cualitativos o cuantitativos. El uso de más de un método analítico es útil para confirmar los resultados. Los métodos más utilizados son: (Forero V., & Navarrete D., 2008)

1.3.1.11.1. Métodos Específicos

Métodos específicos por cada ingrediente del producto: utilizando adaptaciones del método de identificación rutinario del producto se selecciona la técnica más sensible con el nivel de detección más específico para verificar concentraciones que se pueden presentar después de un proceso de limpieza. Estos métodos deben estar validados. Alguno de los métodos específicos son: (Forero V., & Navarrete D., 2008)

- HPLC
- Absorción atómica
- Fotometría de flama
- Detección enzimática

- Titulación (Forero V., & Navarrete D., 2008)

1.3.1.11.2. Métodos inespecíficos

Cuantificación por TOC. Este método solamente identifica los carbonos orgánicos, (Lakshmana S., & Suriyaprakash T.N.K., 2010), no identifica residuos específicos por lo que se hace difícil la cuantificación. Es conveniente complementar esta técnica con un método específico para un determinado ingrediente del producto. Otros métodos inespecíficos. (Forero V., & Navarrete D., 2008)

- pH
- Conductividad
- Métodos sensoriales, organolépticos
- La FDA recomienda métodos específicos para la cuantificación de residuos. (Lakshmana S., & Suriyaprakash T.N.K., 2010)

1.3.1.11.3. Análisis HPLC

La HPLC o cromatografía líquida de alta eficiencia es una técnica preparativa y técnica analítica, que permite la purificación, identificación y cuantificación del analito deseado. La elección de la fase estacionaria, la fase móvil, del flujo al que se va a impulsar la fase móvil a través de la fase estacionaria e incluso de la temperatura a la que se va a realizar la cromatografía, permitirán una correcta separación, purificación, identificación y cuantificación del analitos de otros compuestos.

Entra en juego el tipo de separación y la naturaleza de la detección, sea absorbancia, conductividad, fluorescencia, relación masa/carga, etc.

El instrumento detecta la presencia del soluto que es convertida en una señal eléctrica y ésta puede ser tratada por un procesador de datos. Se representa la señal obtenida frente al tiempo o al volumen de elución, y al gráfico obtenido se le conoce como cromatograma. (Hernández, J.M., 2005)

El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionario y la fase móvil. El tiempo que tarda un compuesto a ser eluido de la columna se denomina tiempo de retención y se considera una propiedad identificativa característica de un compuesto en una determinada fase móvil y estacionaria. (Hidalgo, A., 2010)

Los disolventes más utilizados son el agua, el metanol y el acetonitrilo. El agua puede contener Buffer, sales o compuestos como el ácido trifluoroacético, que ayudan a la separación de los compuestos. (Hidalgo, A., 2010)

TLC. Tiene la desventaja del tiempo de preparación y que el punto final no es cuantitativo para trazas de producto. (Hidalgo, A., 2010)

1.3.1.11.3.1. *Ventajas*

- Altamente específico;
- Sensibilidad (moderada a alta);
- Altamente cuantitativo;
- Automatización (Hernández, J.M., 2005)

1.3.1.11.3.2. *Desventajas*

- Tiempo de respuesta mayor;
- Altamente costoso
- Difícil análisis cualitativo
- indispensable. (Hernández, J.M., 2005)

1.3.1.12. *Forma Farmacéutica*

La forma farmacéutica es la disposición física que se da a los fármacos y aditivos para constituir un medicamento y facilitar su dosificación y administración. (FEUM, 2011)

1.3.1.12.1. *Polvo.*

Forma sólida que contiene el o los fármacos y aditivos, finamente molidos y mezclados para asegurar su homogeneidad. Los polvos para uso en inyectables deben ser estériles y libres de partículas extrañas. Vía de administración: oral, parenteral, tópica. Consideraciones de uso: para suspensión, para solución, efervescente, para inhalación. (FEUM, 2011)

Se presentan tanto de forma de preparaciones unidosis como multidosis. Los preparados unidosis se acondicionan en sobres o viales mientras que los multidosis requieren un dosificador. (Zaragoza, y otros., 2010)

1.3.1.12.1.1. *Ventajas*

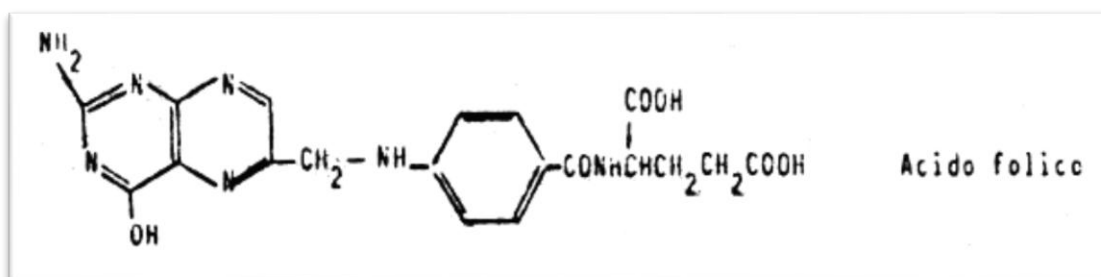
- Mayor estabilidad que en disolución
- Flexibilidad de la vía de administración
- Proceso de fabricación es rápido
- Rápida absorción (amplia área superficial)
- Fáciles de transportar y administrar (sobres)
- Facilita el ajuste de dosis. (Bernad, M.J., 2014)

1.3.1.12.1.2. *Desventajas*

- Pueden contaminarse y adsorber gases o humedad
- No enmascara sabor desagradable
- Se puede presentar segregación
- .No apto para personas inconscientes, por vía oral. (Bernad, M.J., 2014)

1.3.1.13. **Ácido Fólico o Folatos**

Figura 1-1. Estructurada química del ácido fólico



Fuente: FAO, 2002

El ácido fólico se presenta como un polvo cristalino de color amarillo anaranjado sin olor sensible a la luz. Es poco soluble en agua pero fácilmente soluble en soluciones ácidas o básicas débiles. (FAO, 2002)

Ácido fólico es el nombre del grupo (también llamados folatos o folacina) que se da a un número de compuestos cristalinos de color amarillo relacionados con el ácido pteroglutámico. En forma de ácido tetrahidrofólico funciona como una coenzima para aquellas reacciones en las que se efectúa la transferencia de una unidad de carbono (p.ej. unidades de formil, metil, formato e hidroximetil) de un compuesto a otro. Por ejemplo, el ácido tetrahidrofólico está

involucrado en la síntesis de la hemoglobina, glicina, metionina, colina, tiamina (pirimidina) y purinas; así como en el metabolismo de la fenilalanina, tirosina e histidina.

El ácido fólico interviene en el metabolismo de los aminoácidos. El ácido fólico en los alimentos se destruye con facilidad por la cocción. (FAO, 2002)

1.3.1.13.1. Necesidades en los humanos.

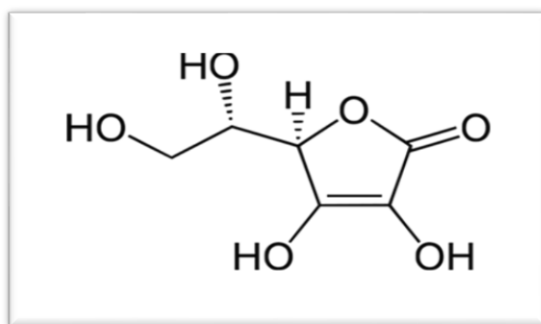
El consumo diario recomendado para adultos es de 400 µg.

1.3.1.13.2. Carencia

El principal uso terapéutico del ácido fólico es el tratamiento de la anemia nutricional macrocítica o megaloblástica del embarazo y la infancia y la prevención de los defectos del tubo neural. La dosis diaria recomendada para un adulto es de 5 a 10 mg. (FAO, 2002)

1.3.1.14. Vitamina C (ácido ascórbico)

Figura 2-1. Estructura química del ácido ascórbico



Fuente: FAO, 2002

El ácido ascórbico es una sustancia blanca cristalina, muy soluble en agua. Tiende a oxidarse con facilidad. No le afecta la luz, pero el calor excesivo la destruye, sobre todo cuando se encuentra en una solución alcalina.

Como es un agente antioxidante y reductor poderoso, puede por lo tanto reducir la acción perjudicial de los radicales libres y es también importante para mejorar la absorción del hierro no-hemínico en alimentos de origen vegetal. (FAO, 2002)

El ácido ascórbico es necesario para la formación y mantenimiento adecuados del material intercelular, sobre todo del colágeno.

Un extenso estudio sugiere una reducción modesta en la severidad de los síntomas de resfriados en quienes toman vitamina C medicinalmente, pero la vitamina no evitó los resfriados.

No es aconsejable tomar dosis terapéuticas muy elevadas de vitamina C durante largos periodos. El ácido ascórbico se mide en miligramos de la vitamina pura. (FAO, 2002)

1.3.1.14.1. *Necesidades en los humanos*

Las opiniones sobre las necesidades humanas difieren mucho. Parece claro que se necesitan hasta 75 mg diarios para que el cuerpo permanezca saturado a plenitud con vitamina C. Sin embargo, las personas parecen mantenerse saludables con consumos tan bajos como 10 mg por día. Cifras de 25 mg para adultos, 30 mg para adolescentes, 35 mg en el embarazo y 45 mg durante la lactancia, parecen ser cantidades razonables. (FAO, 2002)

1.3.1.14.2. *Carencia*

El escorbuto y otras manifestaciones clínicas debidas a la falta de vitamina C. Actualmente el escorbuto no es una enfermedad predominante. Los brotes han ocurrido en zonas de hambrunas y recientemente en varios campos de refugiados en África.

En sus primeras etapas, la carencia de vitamina C puede ocasionar encías que sangran y cicatrización lenta de las heridas. (FAO, 2002)

Tabla 2-1. Ingesta recomendada de nutrientes (IRN) para vitamina c

Etapas de la Vida	Edad	Hombres (mg/día)	Mujeres (mg/día)
Infantes	0-6 meses	40 (IA)	40 (IA)
Infantes	7-12 meses	50 (IA)	50 (IA)
Niños	1-3 años	15	15
Niños	4-8 años	25	25
Niños	9-13 años	45	45
Adolescentes	14-18 años	75	65
Adultos	19 años y más	90	75

Fuente: Kathleen, L. M.; Sylvia E. S. (2009). Krauser Dietoterapia,

Tabla 3-1. Nivel máximo de ingesta tolerable (NM) para vitamina c

Grupo Etario	NM (mg/día)
Infantes 0-12 meses	Imposible de determinar*
Niños 1-3 años	400
Niños 4-8 años	650
Niños 9-13 años	1.200
Adolescentes 14-18 años	1.800
Adultos 19 años y más	2.000

*La fuente de la ingesta debiera ser de alimentos y fórmula

Fuente: Kathleen, L. M.; Sylvia E. S. (2009). Krauser Dietoterapia,

Tabla 4-1. Ingesta recomendada de nutrientes (IRN) de ácido fólico

Etapas de la Vida	Edad	Hombres (µg/día)	Mujeres (µg/día)
Infantes	0-6 meses	65 (IA)	65 (IA)
Infantes	7-12 meses	80 (IA)	80 (IA)
Niños	1-3 años	150	150
Niños	4-8 años	200	200
Niños	9-13 años	300	300
Adolescentes	14-18 años	400	400
Adultos	19 años y más	400	400

Fuente: Kathleen, L. M.; Sylvia E. S. (2009). Krauser Dietoterapia,

Tabla 5-1. Nivel de ingesta tolerable máxima (NM) de ácido fólico

Grupo etario	NM (µg/día)
Infantes 0-12 meses	No es posible establecer*
Niños 1-3 años	300
Niños 4-8 años	400
Niños 9-13 años	600
Adolescentes 14-18 años	800
Adultos 19 años o más	1,000

*La fuente de la ingesta debiera ser sólo de alimentos y fórmula.

Fuente: Kathleen, L. M.; Sylvia E. S. (2009). KrauserDietoterapia,

1.3.1.15. *Contaminación cruzada*

Según la OMS, se define contaminación cruzada a la contaminación producida de un material o producto con otro material o producto. (OMS, 2004)

En muchos casos el mismo equipo puede ser usado para la elaboración de diferentes productos subsecuentes; es esencial entonces, no solo un buen procedimiento de limpieza sino también una adecuada estrategia de validación de limpieza, se ha incrementado el riesgo potencial de contaminación cruzada y adulteración de drogas producidas subsecuentemente en un mismo equipo.

Para minimizar estos riesgos de contaminación la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (conocida por las siglas FDA en inglés) hizo mucho más énfasis en la limpieza de los equipos. En julio de 1993 apareció en la guía de inspección de la FDA una revisión sobre validación de limpieza, en ella se exigió que las compañías tuvieran por escrito el procedimiento general del proceso de limpieza que sería validado, donde debían estar indicados también el procedimiento de muestreo y el método analítico usado en la cuantificación del residuo de principio activo. ((López, M., & Pierre, A., 2005)

1.3.1.16. *System Suitability*

System Suitability de acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) y la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), System Suitability es una parte integral de muchos procedimientos analíticos. Aunque la USP y ICH no son agencias reguladoras, sus directrices son seguidos de cerca en la industria, ya que son aceptados por la FDA. (Snyder, G., Kirkland J., & Dolan J., 2010)

Las pruebas del System Suitability son una parte integral de los métodos cromatográficos, el mismo que se utiliza para verificar tanto resolución y precisión, exactitud y estos sean los más adecuados para realizar el análisis.

System Suitability se basa en el concepto de que el equipo, la electrónica, operaciones analíticas y muestras constituyan un sistema integral y se pueda evaluarse como tal y verificar su rendimiento es el adecuado antes o durante del análisis de la muestra.

Las características como el número el número de platos, factor de asimetría, la resolución y la precisión (repetibilidad) se miden y se comparan con las especificaciones del método.

Los parámetros de System Suitability se miden durante el análisis de un " System Suitability muestra" (una mezcla de los componentes principales y de degradación o impurezas esperados, formulado para simular una muestra representativa).

Sin embargo, las muestras que están en sólo un único pico (por ejemplo, un ensayo de sustancia de fármaco donde sólo el API está presente) se pueden utilizar, siempre que un número de placa de columna y factor de asimetría que se especifican en el método de ensayo.

Se realizara una repetición de inyección del System- Suitability muestra el cual se comparara para determinar si se cumple con los requisitos de precisión. A menos que se cumplan se especifique lo contrario por el método de ensayo, se utilizara los datos de cinco inyecciones repetidas de los análisis para calcular la desviación estándar relativa del método de ensayo y este sea menor o igual $RSD \leq 2\%$. (Snyder, G., Kirkland J., & Dolan J., 2010)

1.3.1.16.1. Procedimiento

Para equilibrar la columna permita que la fase móvil fluya a través del sistema de cromatografía hasta la línea de fondo y los tiempos de retención de las sustancias a analizar sean estables con la velocidad de flujo especificado en la monografía correspondiente (generalmente unos 30 minutos). En caso de pares de iones los tiempos de equilibrio cromatográfico pueden prolongarse significativamente (hasta 12 horas).

1.3.1.16.2. Preparación para la prueba prescrita y soluciones de referencia.

Injectar la solución de referencia y, si es necesario, ajustar el detector y / o la respuesta grabadora para producir un tamaño de pico adecuado.

Para los registradores gráficos e integradores debe ser de al menos el 50% de la totalidad de la escala del pico principal en el cromatograma obtenido con la solución de referencia. Asegúrese de que se cumplen los criterios de idoneidad del sistema.

La solución de referencia se debe inyectar en el inicio, a intervalos regulares durante y al final de una serie de ensayos (por ejemplo, cada 2-4 muestras). Tanto el las soluciones de ensayo y de referencia debe ser inyectado por duplicado.

Para la determinación de componentes de una mezcla compleja de un proceso "normalizado", está basado en el cálculo de las áreas de los picos individuales como porcentaje de la superficie total de todos los picos (excluyendo a los disolventes, reactivos, derivados de la fase móvil o de la matriz de la muestra y los que están en o por debajo del límite en el que se puede hacer caso omiso), podrán utilizarse cuando los factores de respuesta relativos de los componentes individuales son similares y se ha demostrado que las señales (respuestas) del principal (principales) y el picos menores están dentro del rango lineal del detector.

Por ejemplo, cuando se utiliza una prueba de HPLC con detección UV / VIS para el control de las impurezas, la longitud de onda de detección debe ser tal que la sustancia y sus impurezas tienen respuestas similares. Si una impureza tiene una respuesta significativamente diferente (más de $\pm 20\%$) de la sustancia que se examina, la forma preferida de limitar esta impureza es utilizar una sustancia de referencia de la impureza.

Cuando la composición de la fase móvil es variada en una elución en gradiente lineal realizará un análisis en blanco para identificar cualquier pico de interferencia mediante la inyección del disolvente especificado para la preparación de las soluciones problema. (WHO, 2006)

1.3.1.16.3. *Detector*

Un detector de HPLC debe ser sensible a pequeñas concentraciones dar una respuesta lineal amplia, tener poco ruido de fondo y ser estable en el tiempo que dura el cromatograma, la celda del flujo del detector deberá tener un volumen mínimo para que no provoque un ensanchamiento de la bandas (Snyder. L. & Kirkland, J., 1979).

1.3.1.16.3.1. *Detectores espectrofotométricos*

Mide la absorbancia a una o varias longitudes de onda en el ultravioleta o en el visible. Es muy común usar una detección de UV a 254 nm donde absorbe gran cantidad de compuestos

orgánicos e instrumentos versátiles en instrumentos más versátiles se utiliza una lámpara de deuterio y un monocromador para mediciones a longitud de onda variable. Cuando los picos están suficientemente separados, se puede elegir una longitud de onda para cada pico.

1.3.1.16.3.2. *Detectores de fluorescencia*

Miden la emisión fluorescente por parte de los analitos, estos utilizan una lámpara de xenón o deuterio y se selecciona la longitud de onda adecuada mediante los correspondientes filtros. Es muy sensible pero aplicados a compuestos fluorescentes. Como los hidrocarburos aromáticos polinucleares, quinoleínas, esteroides, alcaloides, etc (González, P. C., 2008)

1.3.1.16.3.3. *Detectores electroquímicos*

Se basa en métodos electroanalíticos como la amperometría, coulumbimetría, voltamperometría, que detectan compuestos electroactivos, es decir susceptibles de sufrir reacciones de oxidación o reducción. Así, por ejemplo, fenoles, aminas, peróxidos y mercaptanos pueden detectarse por oxidación, mientras que hidrocarburos no saturados, cetonas, aldehídos y nitrocompuestos aromáticos.

Las ventajas respecto a otros métodos de detección, en orden a su especificidad, sensibilidad y amplia aplicabilidad, especialmente para compuestos orgánicos. En este sentido, cualquier especie capaz de ser oxidada o reducida sobre un electrodo es susceptible de detección por vía electroquímica en una variedad de matrices, como medioambientales, farmacéuticas y químicas. (González, P. C., 2008)

1.3.1.16.3.4. *Detectores refractométricos*

El detector de índice de refracción es, posiblemente, el que más se aproxima al detector universal ideal, ya que, en principio, el índice de refracción (IR) de la fase móvil deberá modificarse por la presencia de cualquier soluto que tenga un índice de refracción diferente de ella. Por ello, la comparación del IR de la fase móvil pura con el de los efluentes que salen de la columna cromatográfica, indicará la presencia de cualquier soluto eluido. (González, P. C., 2008)

Tabla 6-1. Detectores útiles para el análisis de trazas por cromatografía líquida. (HPLC)

DETECTOR				
Parámetros	Reacción fotométrica UV Detector espectrofotom étrico	Fluorimétrico Espectrofluorímetro		Detector Electro- químico
Sensibilidad aproximada al ruido 1%, a gran escala	0,002 UA	A	0.005 AU	10^{-10} amps
Útil con gradientes de sensibilidad. Variabilidad para los compuestos sensibles. La sensibilidad a las pulsaciones de la bomba, la velocidad del flujo cambia la sensibilidad aproximada de muestra favorable, g/L	Sí	Sí	Sí	B
	Amplio	Muy amplio	Reducido	Muy reducido
	Mínima	Mínima	Moderado	Moderadamente alto
	2×10^{-7}	1×10^{-9}	5×10^{-7}	$\leq 10^{-9}$

^a especificaciones adecuadas no disponible. ^b No disponible, pero probablemente está restringido.

Fuente: Introduction To Modern Liquid Chromatography. 2nd Edition, 1979

1.3.1.17. *Análisis de Trazas*

El estudio de Fourman GL, Mullen MV, en 1993, indica el uso de métodos analíticos con elevada especificidad y sensibilidad para detectar las trazas de los componentes de la formulación; aunque si estas no son detectadas no quiere decir que no estén presentes después del proceso de limpieza, si no que se encuentran en niveles de concentración inferiores a los límites de cuantificación y/o detección del método analítico seleccionado para su control. (Martínez, M L., y otros, 2001)

Se define trazas a los componentes en una muestra cuando su concentración es tan pequeña que no se puede determinar por métodos gravimétricos o volumétricos. (Pino, F. & Pérez, D.. 1983)

Impurezas del fármaco, a cualquier sustancia que acompañe al fármaco y que no es la entidad química definida como el fármaco mismo. (EUM. Secretaría de salud., 2013)

De acuerdo a Snyder & Kirkland (1979), el análisis de trazas se define como la determinación de la cantidad porcentual (inferior al 0,01% en peso) de un componente o sustancia de un elemento en una muestra.

Por lo tanto hay varias razones para realizar análisis de trazas, la técnica de HPLC es la técnica más adecuada y ampliamente utilizado para el análisis de componentes de traza ($\leq 0.01\%$). En primer lugar, debido a la amplia variedad de interacciones selectivas LC, el poder de alta resolución es necesario para el análisis de trazas en mezclas.

EL HPLC se utiliza para el análisis de muestras de concentración que varían ampliamente. El término análisis de trazas a menudo se utiliza para describir pequeñas concentraciones de muestra. Una forma de definir el análisis de trazas consiste en representar las muestras, para que la precisión de la medición se vea afectado por la concentración, a menudo con un punto de transición al análisis de trazas cuando $S/R \approx 100$.

Aparte de los problemas asociados de las bajas concentraciones y señales pequeñas, el análisis de trazas es poco diferente del análisis de más muestras concentradas. El análisis cuantitativo de trazas en LC se lleva a cabo habitualmente por mediciones de altura máxima, lo cual se recomienda evaluar tanto la altura del pico y área del pico; porque este enfoque permite la máxima exactitud y la precisión adecuada.

En segundo lugar, algunos análisis de trazas son las mejores llevada a cabo por LC moderna debido a la disponibilidad de un número de muy dispositivos selectivos (por ejemplo, amperométrica, fluorométricos) que detectan únicamente cierta componentes en concentraciones muy bajas. Finalmente, a menudo hay menos la limpieza que la muestra requiere antes del análisis por LC que en otros métodos (por ejemplo, GC); en los casos favorables, las muestras pueden ser inyectadas sin tratamiento previo o derivatización de la muestra.

Varios factores experimentales tienen un efecto significativo en la sensibilidad, la precisión y la reproducibilidad del análisis de traza por LC. Estos incluyen resolución de columna, técnica de inyección de la muestra de cromatografía, la detección, la calibración analítica procedimiento, y el pretratamiento de la muestra. (Snyder. L. & Kirkland. J., 1979)

1.3.1.17.1. Determinación de la cantidad de Trazas

Para los ensayos de trazas puede ser una prueba cuantitativa o una prueba de límite para la impureza en una muestra. De cualquier prueba pretende reflejar con precisión las características de pureza de la muestra. Se requieren diferentes características de validación para una prueba cuantitativa que para un ensayo límite. (ICH, 2005)

Considerando que el límite de aceptación es una cifra calculada y representa la especificación para la limpieza de equipos, la cantidad de residuo o trazas en el equipo es el valor objetivo del sistema y debe ser determinada por métodos adecuados. Principalmente la determinación procede en dos etapas. Estos son el muestreo y la cuantificación de los contaminantes en la muestra.

Debido a que los límites aceptables de limpieza de los equipo son decisivos porque pueden llevar un riesgo potencial a los productos, debe realizarse en base a los valores correctos y científicamente validados. Por lo tanto, el método para la determinación de residuos debe ser adecuadamente validado.

En la práctica, por lo general es posible diseñar el trabajo experimental, tal que las características de validación sean las apropiadas, como se puede considerar: especificidad, linealidad, rango, exactitud y precisión. Cabe señalar que la robustez no aparece en la Tabla.7 pero se debe considerar en una etapa apropiada en el desarrollo del procedimiento analítico.

Es habitual emplear los requisitos de los métodos de análisis de validación para las pruebas por impurezas. (A Sector Group Of Cefic, 2000)

Tabla 7-1: Lista de requisitos

Tipo de procedimiento analítico		Pruebas de impureza		Ensayo
		Cuantitativo	Límite	
Exactitud	-	+	-	+
Precisión				
Repetibilidad	-	+	-	+
Precisión intermedia	-	+ ¹⁾	+	+ ¹⁾
Especificidad	+	+	+	+
Límite de detección	-	- ³⁾	-	-
Límite de cuantificación	-	+	-	-
Linealidad	-	+	-	+
Alcance	-	+	-	+

Fuente: A Sector Group Of Cefic, 2000

- - Significa que esta característica no se evalúa normalmente.
- + Significa que esta característica se evalúa normalmente.
- 1) En los casos en que se ha realizado la reproducibilidad, no necesita precisión intermedia.
- 2) La falta de especificidad de un procedimiento analítico podría ser compensada por otro procedimiento analítico de apoyo (s).
- 3) Puede ser necesaria en algunos casos. (A Sector Group Of Cefic, 2000)

1.3.1.17.1.1. Especificidad

La especificidad es la capacidad de un método analítico de evaluar el analito en presencia de componentes que se pueden esperar en el que estén presentes. Normalmente, estos pueden incluir impurezas, productos de degradación, matriz, etc

Los términos de selectividad y especificidad a menudo se utilizan indistintamente, el término específico general se refiere a un método que produce una respuesta de un solo analito, mientras que el término selectivo se refiere a un método que proporciona respuestas para una serie de entidades químicas que pueden o no se pueden distinguir unos de otros. Si la respuesta se distingue de todos los demás respuestas, se dice que el método es selectivo.

Puesto que hay muy pocos métodos que responden a un solo analito, el término selectividad y especificidad por lo general son las medidas más fiables cuando existe la presencia de una interferencias. (UNODC, 2009)

La falta de especificidad de un procedimiento de análisis puede ser compensada o apoyada por otros procedimiento (s) analíticos (s).

Según las ICH para evaluar la selectividad se distingue 3 categorías:

Identificación: garantizar la identidad de un analito.

Ensayo de pureza: asegurar que todos los procedimientos analíticos realizados permiten a una declaración exacta del contenido de las impurezas de un analito, p. ej., prueba de sustancias relacionadas, con metales pesados, contenido de disolventes residuales, etc.

Ensayo (contenido o potencia): para proporcionar un resultado exacto, que permite una justificación exacta sobre el contenido o potencia del analito en una muestra. (ICH, 2005)

1.3.1.17.1.2. *Precisión*

La precisión de un procedimiento analítico expresa el grado de concordancia entre el valor que se acepta, ya sea como un valor verdadero convencional o un aceptadas valor de referencia y el valor encontrado. Esto a veces se llama la veracidad.

La precisión de un procedimiento analítico expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidos a partir de un muestreo múltiple de la misma muestra homogénea en las condiciones prescritas. La precisión puede ser considerado en tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

La precisión debe ser investigada usando muestras homogéneos auténticas. Sin embargo, si no es posible obtener una muestra homogénea que puede ser investigada se utiliza un preparado de muestras artificiales o una solución de muestra.

La precisión de un procedimiento analítico se expresa generalmente como la varianza, desviación estándar o el coeficiente de variación de una serie de mediciones. (ICH, 2005)

1.3.1.17.1.3. *Repetibilidad*

La repetibilidad expresa la precisión en las mismas condiciones de operación durante un corto intervalo de tiempo. La repetibilidad también se denomina precisión intra-ensayo.

1.3.1.17.1.4. *La precisión intermedia*

La precisión intermedia expresa dentro-laboratorios variaciones: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos, etc.

1.3.1.17.1.5. *Reproducibilidad*

La reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios (estudios en colaboración, por lo general es aplicado para estandarizar una metodología). (ICH, 2005)

1.3.1.17.1.6. *Linealidad*

La linealidad de un procedimiento analítico capaz de (dentro de un rango determinado) para obtener resultados de las pruebas que son directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra.

1.3.1.17.1.7. Rango

El rango de un procedimiento analítico, es el intervalo entre la parte superior e inferior concentración (cantidad) de analito en la muestra (incluida) para estas concentraciones que se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad. (ICH, 2005)

1.3.1.17.1.8. Robustez.

Un método analítico es resistente o robusto si los resultados no son (muy) sensible a las variaciones en las condiciones experimentales. Tales condiciones pueden ser la temperatura, extracción o tiempo de agitación, la técnica de agitación, el pH, la pureza de los reactivos, el contenido de humedad de la muestra, tamaño de la muestra, etc

1.3.1.17.1.9. Calibración

En el análisis de trazas, la exactitud es más importante; por lo tanto, se buscan las bandas libres de componentes que interfieren. La alta precisión por lo general no es tan importante en el análisis de trazas, y reproducibilidades alrededor del 10% correspondiente a menudo son adecuados. Como resultado, los métodos de altura máxima deben ser utilizados para el análisis de trazas. Que son métodos de análisis de trazas más convenientes, y satisfactorios. (ICH, 2005)

1.3.1.17.2. Condiciones preferentes para análisis de trazas

1. Use un detector selectivo con una gran relación señal-ruido(S/N) para el compuesto (s) de interés.
2. Establecer separaciones con menor a k' valores (por ejemplo, $k' = 0,5$ a $1,5$, si lo permite la resolución).
3. Utilizar una columna pequeña que proporciona una mayor eficiencia, preferentemente con más de 5.000 platos teóricos. Las columnas con partículas <10 micras-son particularmente ventajosos, y la cual debería ser utilizadas.
4. Usar diámetros de columna $\geq 0,4$ cm si el volumen de la muestra no se limita y si el tamaño de la muestra es limitada, se deben utilizar columnas 0,2-0,3 cm.
5. El uso de las mismas reduce las velocidades v de la fase móvil = 10.5, o 0.2 cm / seg. para 5 micras de partículas y 0.08 cm / seg para partículas de 10 micras.

6. Utilizar grandes volúmenes de muestra. Iniciar con la muestra que es una quinta parte del volumen del pico de interés, aumentar hasta que el pico de altura por unidad de concentración o resolución de los componentes vecinos quedan limitantes.
7. Utilice una bomba sin pulso (automática) capaz de entrega móvil de fase precisa.
8. Utilice las mediciones de pico de altura con separaciones isocráticas para la máxima precisión y reproducibilidad adecuada. (Snyder. L.& Kirkland. J., 2010)

1.3.1.18. *Factores que afectan el análisis de trazas*

Con frecuencia el problema analítico es encontrar el componente de interés en una mezcla compleja, a veces los compuesto de componentes ampliamente están variando los valores de k' . A menudo es factible con las separaciones de fase inversa para eluya la mayor parte de los constituyentes de la muestra.

El rastreo de los componentes de interés puede incluso ser completamente enmascarado por "Basuras", y la resolución se debe aumentar sustancialmente para permitir la medición. Se considera a , N , y k' efectivamente independiente, y cada parámetro se puede variar y optimizar para su separación. Por lo tanto, a , N , y k' se pueden ajustar para permitir el análisis de trazas a ser llevado con mayor sensibilidad y exactitud. (Snyder. L.& Kirkland. J., 2010)

1.3.1.18.1. *Límites*

Un método de HPLC debe producir resultados con precisión y exactitud aceptables dentro de un cierto rango de concentraciones de analito. (Snyder, L., Kirkland, J. & Dolan. J., 1979)

1.3.1.18.1.1. *Límite de Detección*

La ICH define LD como la cantidad más baja de analito en una muestra que se puede detectar pero no necesariamente cuantificarlo como un valor exacto. Es decir, será igual a la concentración del analito que produzca 3 veces señal del ruido (ICH, 2005)

1.3.1.18.1.2. *Límite Cuantificación*

El límite de cuantificación se define como procedimiento analítico individual es la concentración más baja de analito en una muestra que se puede cuantificar con una determina precisión y exactitud. Es decir, será igual a la concentración del analito que produzca 10 veces señal del ruido. El límite de cuantificación es un parámetro de análisis cuantitativos de baja

niveles de compuestos en matrices de muestras, y se utiliza en particular para el determinación de impurezas y / o productos de degradación. (ICH, 2005)

La determinación más común de los límites de Detección y de Cuantificación son mediante.

1.3.1.18.1.3. *Método basado en la relación señal/ ruido*

Este método, uno de los más conocidos y empelados, requiere que el procedimiento de análisis instrumental proporcione una señal residual a concentraciones cero de analito. Es el caso de los métodos instrumentales tan empleado en el campo químico- farmacéutico como la espectrofotometría UV-visible, HPLC o la cromatografía de gases.

Cuando el método de análisis se basa en alguna de estas técnicas se pueden establecer límites de detección y cuantificación de forma teórica.

.

Este proceso lleva una desventaja que al comprobar de manera experimental con el Límite de cuantificación calculado se observa que proporciona resultados precisos y exactos aun cuando se descende más en las concentración limite (Aguirre, O. L., García, G. J., y otros, 2001)

1.3.1.18.1.4. *Método basado en la desviación estándar de la respuesta del blanco y la pendiente de la recta de calibrado*

Según la unión internacional de química pura y aplicada (IUPAC) se puede calcular el límite detección y de cuantificación de un método analítico partir del conocimiento de la desviación estándar atribuible a la respuesta de una muestra de placebo y la pendiente de la recta de calibrado del analito. (Aguirre, O. L., García, G. J., y otros, 2001)

1.3.1.18.1.5. *Método basado en la extrapolación de la recta calibrado a concentración cero*

Se trata de un procedimiento aplicable también a métodos analíticos instrumentales que proporcionan resultados numéricos y dirigidos a evitar el cálculo, en ocasiones costosos en tiempo, de la señal media del blanco y su desviación estándar. Para ello, el método utiliza la pendiente de un recta de calibrado realizada a niveles de concentración cercanos a los límites esperados pero sustituye el valor real de la señal del blanco por el resultante de la extrapolación de dicha recta. La intersección con el eje “Y” corresponderá al valor de la respuesta a concentración cero de analito. (Aguirre, O. L., García, G. J., y otros, 2001)

1. Se determina la pendiente de cada una de las curvas de calibración de los compuestos en análisis.
2. Se obtiene otra curva y ecuación de calibración; pero esta vez con los tres patrones de menor concentración, extrapolando la respuesta a concentración a cero de la recta de calibrado y así se obtiene la señal ruido correspondiente al termino independiente de la ecuación de la recta de calibrado (Y_{bl}).
3. Se calcula la desviación estándar de la señal proporcionada por el ruido, construyéndose una recta concentración de patrones menores vs desviación estándar de las respuestas, se extrapola la desviación estándar a concentración cero y se obtiene el valor medio de la señal ruido (S_{bl}), Aplicando las siguientes formulas se tiene:

Límite de detección:

$$C_L = \frac{Y_{bl} + K \cdot S_{bl}}{b}$$

Límite de cuantificación:

$$C_L = \frac{Y_{bl} + K \cdot S_{bl}}{b}$$

Dónde:

C_L = Concentración de analito en el límite de cuantificación o detección.

K = Constante que usualmente se considera igual a 10 para el LC e igual a 3 para el LD.

S_{bl} = desviación estándar correspondiente a la señal del blanco o placebo.

Y_{bl} : estimado del blanco. Respuesta a concentración cero

b = pendiente de la curva de calibración obtenida al representar la respuesta del método frente a la concentración de analito. Evidentemente el rango de esta recta tiene que ser cercano en concentraciones a los niveles límite de cuantificación Si el método analítico realiza la lectura final por duplicado o triplicado, mejorando con ello la precisión, se ha de introducir en la fórmula el término correspondiente a las réplicas (n) en la siguiente forma. (Aguirre, O. L., García, G. J., y otros, 2001)

1.3.1.19. *Determinaciones de Límites de aceptación de residuo.*

Residuo.- Es cualquier objeto, material, sustancia, elemento o producto que se encuentra en estado sólido o semisólido, líquido o gas contenido en recipientes o depósitos, cuyo generador

descarta o rechaza porque sus propiedades o características no permiten usarlo nuevamente.(UNC, 2008)

Se basa en la consideración de una cantidad permisible de residuo que luego del proceso de limpieza puede estar presente en el producto terminado, que va a ser elaborado en el mismo equipo sin experimentar efectos adversos en la salud. (López, M., & Pierre, A., 2005)

Los criterios de aceptación establecidos para los niveles de contaminantes en la muestra deben ser prácticos, factibles y comprobables. La justificación de los límites de residuos establecidos debe ser lógica, y basada en el conocimiento de los materiales involucrados.

Cada situación debe ser evaluada individualmente. La manera en que los límites son establecidos debe ser considerada cuidadosamente. Al establecer los límites residuales, puede ser inadecuado enfocarse sólo en el reactante principal, debido a que otras modificaciones químicas pueden ser más difíciles de remover.

No debe haber residuos de los productos anteriores, de la reacción entre productos y productos de degradación, o del propio proceso de limpieza (por ejemplo, detergentes o disolventes). (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

1.3.1.19.1. Enfoque en la determinación de límites, puede:

- Ser específico por producto;
- Agrupar productos en familias y elegir el producto peor caso;
- Agrupar productos de acuerdo al riesgo, por ejemplo, productos muy solubles, productos con potencia similar, muy tóxicos, o productos difíciles de detectar.

Utilizar diferentes factores de seguridad para diferentes formas de dosificación basado en respuesta fisiológica (este método es esencial para materiales de alta potencia).

Los límites pueden ser expresados como una concentración en el producto siguiente (ppm), límite por superficie de área ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) o en el agua de enjuague como ppm.

La sensibilidad de las metodologías analíticas debe ser definida para permitir que se establezcan límites razonables.

El fundamento para seleccionar los límites de presencia de residuos de productos debe cumplir con los criterios definidos. (Instituto de Salud Pública de Chile. Departamento control nacional. sub-departamento de fiscalización, 2010)

La FDA se basa en un documento que es Guía para la inspección de validación del proceso de limpieza donde cita trabajos realizados Fourman y Mullen en la industria. (López, M., & Pierre, A., 2005)

1.3.1.19.2. Criterios para la determinación de límites de aceptabilidad de residuos

- El criterio de dosis se basa en el principio de que un API debe estar presente en el siguiente producto fabricado en niveles no más altos que una milésima (1/1000) de la dosis mínima diaria del API en la dosis máxima diaria del siguiente producto.
- Cualquier principio activo podrá estar presente en el producto subsecuente hasta un nivel máximo de 10 ppm.
- El criterio de visualmente limpio declara que el equipo debe tener un valor fijo $\leq 400 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Fourman, G., & Mullen, M., 1993), (FDA, 1993)

El factor de seguridad se usa como un extra que provee protección, ya que el valor obtenido de los cálculos teniendo en cuenta este criterio es considerado como un valor seguro. Existen diferentes factores de seguridad en dependencia de la ruta de administración (tabla). (López, M., & Pierre, A., 2005)

Tabla 8-1. Factores de seguridad según la vía de administración

Vía de Administración	Factor de seguridad
Parenteral, oftalmológica	0,0001
Oral	0,001
Tópica	0,01

Fuente: López Marzo A.M, Pierre Marzo R.A (2005).

1.3.1.19.3. Aplicación de los tres criterios de aceptabilidad según la FDA dentro de Ginsberg Ecuador S.A.

Una vez realizado el proceso de limpieza no deben existir residuos visibles, Si no cumple con estos requerimientos no continuar con el análisis. (Ginsberg Ecuador S.A., 2014)

Las trazas de residuos de producto, agentes de limpieza deben cumplir con las especificaciones preestablecidas.

Los criterios mencionados a continuación y establecidos por la FDA son los que se utilizaran como referencia y que la empresa utiliza para la determinación de trazas que se realizara en base al límite de aceptabilidad que será el valor más exigente resultante de aplicar los tres criterios. (Ginsberg Ecuador S.A., 2014)

1er Criterio

$$\frac{0,001 * d}{D} \times \frac{U}{S} \times s$$

d: mg /día

D: dosis / día

U: sobres.

s: 25 cm²

S: cm²

Dónde:

d: dosis terapéutica mínima diaria de principio activo

D: es el número máximo de unidades de dosis por día

U: es el tamaño de lote expresado en número de unidades de dosis

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes.

1er criterio _____ x _____

2do Criterio

$$10 \text{ ppm} \times \frac{T}{S} \times s$$

T: Kg

s: 25 cm²

S: cm²

Dónde:

T: Tamaño final del lote en Kg

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

2do criterio _____ x _____ x S

3er criterio: < 400 µg/ cm² o 0,4 mg/ cm². (Ginsberg Ecuador S.A., 2014)

CAPITULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

- Diseño experimental
- Protocolo
- Técnicas para análisis de trazas

En el presente capítulo se describirá el programa experimental utilizado como base de trabajo para realizar el análisis de trazas en la limpieza de equipos utilizados en la producción de ácido ascórbico y ácido fólico– Polvo para suspensión oral. Ciertas partes que conforman el protocolo detallado a continuación están estructuradas como Procedimiento operativo estándar (POE).

2.1. Diseño experimental

2.1.1. *Características del diseño experimental*

LUGAR: Industria Farmacéutica GINSBERG S.A.

CANTÓN: Quito

PROVINCIA: Pichincha

2.1.2. *Factores del estudio*

POBLACION

Se tomará como población las muestras de los equipos: Sacheteadora Effitec, Mezclador Roenhardt, y el Tamizador, utilizados para la producción de ácido ascórbico y ácido fólico– Polvo para suspensión oral.

MUESTRA

Las muestras que se tomarán para el estudio, serán el hisopado de la superficie de los puntos críticos de los equipos: Sacheteadora Effitec, Mezclador Roenhardt, y el Tamizador, utilizados

para la producción de ácido ascórbico y ácido fólico– Polvo para suspensión oral. (Ginsberg, Ecuador S.A., 2014)

2.1.3. Especificidad del experimento

2.1.3.1. Lugar y pruebas de ensayo

- Industria Farmacéutica GINSBERG S.A. QUITO-ECUADOR
 - Las pruebas a realizarse son:
- Toma del hisopado de las superficies de los puntos críticos de los equipos: Sacheteadora Effitec, Mezclador Roenhardt, y el Tamizador, utilizados para la producción de ácido ascórbico y ácido fólico– Polvo para suspensión oral.
- Análisis de las muestras tomadas mediante HPLC
- Tratamiento estadístico de los datos obtenidos.

2.2. Protocolo de validación

TITULO: PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA POR TRAZAS DE ÁCIDO ASCÓRBICO 30 mg/g + ÁCIDO FÓLICO 160 ug/g. EN EL PROCESO DE PRODUCCIÓN DE LIMERICHIS PLUS SOBRES

2.2.3. Generalidades

Esta documentación describe el método analítico, responsabilidades y criterios de aceptación de la Validación del Método de Limpieza por trazas de ÁCIDO ASCÓRBICO 30mg/g + ÁCIDO FÓLICO 160ug/g en el producto LIMERICHIS PLUS SOBRES en los equipos de producción utilizados Sacheteadora Effytec, Tamizador, y Mezclador Roenhardt

2.2.4. Objetivo

Estandarizar el procedimiento de validación de limpieza y los requerimientos a ser implementados para la determinación del análisis de trazas de ÁCIDO ASCÓRBICO 30 mg/g + ÁCIDO FÓLICO 160 ug/g en el producto LIMERICHIS PLUS sobres de Ginsberg Ecuador S.A planta Quito, luego de una producción regular.

.

2.2.5. Alcance

Este procedimiento se aplicara a todos los equipos utilizados en la producción de Ácido Ascórbico + Ácido Fólico Polvo para suspensión oral, todos sus aditamentos de operación y accesorios de Ginsberg Ecuador S.A.

2.2.6. Responsabilidades

Grupo de Mantenimiento:

- En cualquier caso de encontrarse algún mal funcionamiento o anomalía del equipo se dará soporte al mismo

Producción:

- Revisar que el cumplimiento del proceso limpieza se ponga en marcha según indique este documento.
- Dar seguridad de que la maquina tuvo el mantenimiento de limpieza después de uso.
- Considerará una limpieza profunda antes de un cambio de lote.
- Informará a mantenimiento en caso de alguna anomalía con el equipo.
- Notificar al grupo/equipo de Validación, de cualquier reparación, remodelación o revisión hecha al equipo, proceso, o sistema acorde con el programa de control de cambio


Grupo / Equipo de Validaciones:

- Describir el Protocolo de Validación, parámetros específicos de proceso y criterios de aceptación de análisis de acuerdo al registro o especificaciones del producto aprobado, documentación de producción y/o archivo regulatorio
- Coordinar todas las actividades a realizarse con los diferentes jefes de cada área.
- Realizar y documentar el informe de validación.
- Informar al Jefe de producción en caso de no cumplirse con el criterio de aceptación determinado para tomar medidas correctivas

2.2.7. Características técnicas y descripción del equipo

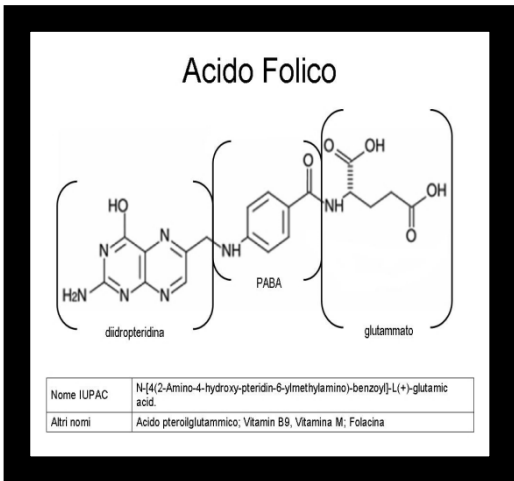
En las presentes Tablas. Se detalla las descripciones técnicas de la Sacheteadora Effytec, Tamizador, y Mezclador Roenhart ubicados en el Área de Producción (área no estéril) de la planta de Quito. A continuación se indica las características técnicas del equipo

Tabla 9-2. Características de la Sacheteadora Effytec

Nombre	Sacheteadora Effytec	 <p>Fotografía 1-2: Sacheteadora ubicada en la zona no estéril del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A.</p>
Modelo	HB152	
Serie	HB152013	
Aire Comprimido	6 Bares	
Voltaje	V=200 A=42	
Capacidad	2500kg	
Dimensiones	3395 x 1400 x 980	


Fuente: Ginsberg Ecuador S.A, 2014

Tabla 10-2. Características del mezclador Roenhart

Nombre:	Mezclador Roenhart	 <p>Fotografía 2-2: Mezclador Roenhart ubicado en la zona no estéril del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A.</p>
Tipo:	Eléctrico – Mecánico Carrusel de dos bandas	
Modelo	Roehart	
Nro. Serie	001	
Capacidad:	50 – 100 Kg.	
Voltaje:	220 V bifásico / 3000 W	
Dimensiones:	130 x 65 x 150 cm.	
Peso aproximado:	150 Kg.	
Aditamentos	Tanques de mezcla de 50 y 100 Kg.	
Instrumentación	Timer de tiempo de mezcla	

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A, 2014

Tabla 11-2. Características del tamizador

Nombre:	Tamizador		Fotografía 3-2: Tamizador ubicado en la zona no estéril del área de producción de Ginsberg Ecuador S.A.
Tipo:	Manual		
Peso aproximado	8.17 Kg		
Malla	Numero 16		

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A, 2014

2.2.8. Procedimiento de Limpieza

Los lineamientos generales de limpieza se ejecutan conforme se indica en el procedimiento operativo estándar de Plan De Limpieza Y Desinfección GE-11-004.7. Sin embargo, con la finalidad de confirmar que la limpieza de los equipos se ejecute correctamente y considerando que cada máquina debe tener consideraciones adicionales en el momento de realizar la limpieza debido a la complejidad de cada equipo, en el presente documento se describe el procedimiento de limpieza para la Sacheteadora Effytec, Tamizador, y Mezclador Roenhardt que posee la planta Quito.

Procedimiento

- Para realizar la limpieza de la máquina, se debe apagar el equipo.
- Posteriormente, se desmonta el equipo en su totalidad de tal manera que se pueda sanitizar de pieza en pieza.
- Para higienizar las partes se utiliza solución Extran al 5%.
- La operación de lavado debe ser realizada de manera exhaustiva especialmente en los puntos de difícil acceso.
- En las piezas que poseen formas no comunes se debe recurrir a un cepillo que no desprenda ningún material extraño, hasta lavado total de dichas piezas.
- Se realiza el enjuague correspondiente, utilizando agua desmineralizada, en múltiples ocasiones para un enjuague total.
- Sanitizar con alcohol etílico al 70% las piezas en contacto con el producto y sus accesorios.

- Secar con aire comprimido las piezas antes de ensamblar nuevamente equipo con sus accesorios.
- Colocar la tarjeta de equipo limpio y llenarla una vez terminado el procedimiento de limpieza.
- El proceso de limpieza se realiza inmediatamente después de cada producción de lote de un producto y luego el intervalo entre el proceso de limpieza de una nueva producción no debe ser mayor a 24 horas, si es mayor se realiza una nueva sanitización con alcohol.

2.2.9. Descripción del procedimiento de análisis

Definiciones y Generalidades

- Hisopado: método de muestreo utilizando hisopos especiales de poliéster que presente un bajo nivel de carbono orgánico total con el fin de analizar la presencia o no, de material adherido soluble e insoluble de droga residual.
- HPLC: Cromatógrafo líquido de alta eficiencia.
- Puntos críticos de limpieza: puntos designados en el equipo a muestrear, de difícil acceso y/o eliminación de residuos

2.2.10. Requerimientos Generales

- Definir previamente a la iniciación de las actividades de validación, los puntos de muestreo para cada máquina, especificando los puntos críticos.
- Identificar parámetros críticos como: temperatura, concentración de las soluciones de limpieza, velocidad, velocidad de flujo de las soluciones para limpieza in situ, condiciones de secado y almacenamiento de los equipos.
- Estandarizar factores y parámetros que pueden afectar la cuantificación analítica del método, estos pueden ser: forma de muestreo, área de muestreo, o solución de enjuague.

2.2.11. Descripción del método y desarrollo de las pruebas

- Materiales
- HPLC
- Equipo de protección personal
- Viales prelavados libres de carbono para uso de TOC
- Agua tipo reactivo con baja conductividad no mayor a 3 μ S y con bajo nivel de carbono orgánico total < 0,100 ppmC

- Etiquetas de identificación de muestreo
- Establecer los puntos críticos de limpieza, considerando la dificultad de acceso, la dificultad de limpieza, la complejidad de ensamblaje de los equipos.
- Se tomarán un mínimo de 6 muestras del equipo dependiendo del nivel de complejidad en la limpieza y los análisis se realizarán por duplicado.

2.2.11.1. *Puntos de muestreo de superficies por hisopado*

- Realizar el muestreo en los puntos críticos definidos para cada equipo.

Tabla 12-2. Ubicación de puntos de muestreo mezclador Roenhardt

Nº Muestra	Equipo	Ubicación
M1	Mezclador Roenhardt	Tapa
M2	Mezclador Roenhardt	Parte lisa interna del tambor
M3	Mezclador Roenhardt	Hendiduras interna del tambor
M4	Mezclador Roenhardt	Fondo interno del tambor

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A, 2014

Tabla 13-2. Ubicación de puntos de muestreo del tamizador

Nº Muestra	Equipo	Ubicación
M1	Tamizador	Tamizador parte interna superior
M2	Tamizador	Tamizador borde interno
M3	Tamizador	Malla punto 1
M4	Tamizador	Malla punto 2

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A, 2014

Tabla 14-2. Ubicación de puntos de muestreo Sacheteadora Effytec

N° Muestra	Equipo	Ubicación
M1	SacheteadoraEffytec	Tolva superior
M2	SacheteadoraEffytec	Tolva 2 punto 1
M3	SacheteadoraEffytec	Tolva 2 punto 2
M4	SacheteadoraEffytec	Tornillo sin fin punto 1
M5	SacheteadoraEffytec	Tornillo sin fin punto 2
M6	SacheteadoraEffytec	Removedor punto 1
M7	SacheteadoraEffytec	Removedor punto 2
M8	SacheteadoraEffytec	Tornillo dosificador punto 1
M9	SacheteadoraEffytec	Tornillo dosificador punto 2
M10	SacheteadoraEffytec	Vaso dosificador punto 1
M11	SacheteadoraEffytec	Vaso dosificador punto 2
M12	SacheteadoraEffytec	vaso de envase punto 1
M13	SacheteadoraEffytec	vaso de envase punto 2

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A, 2014

Figura 3-1. Puntos de muestreo de la Sacheteadora

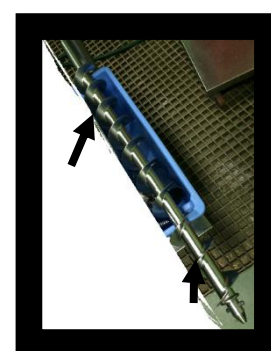


P1. Tolva superior



P2.Tolva 2 punto 1

P3.Tolva 2 punto 2



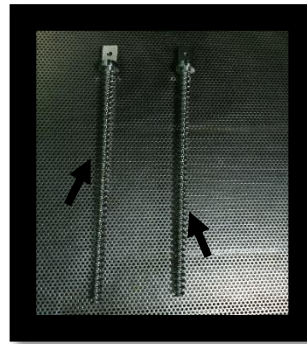
P4.Tornillo sin fin punto 1

P5.Tornillo sin fin punto 2



.Removedor punto 1

P7.Removedor punto 2



P8.Tornillo dosificador punto 1

P9.Tornillo dosificador punto 2



P10.Vaso dosificador punto 1

P11.Vaso dosificador punto 2



P12. vaso de envase punto 1

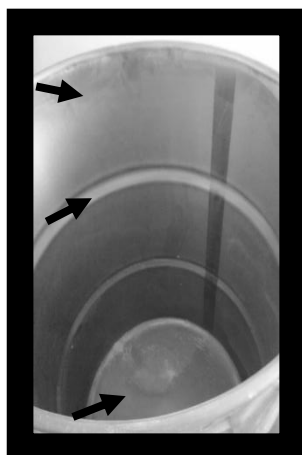
P13. . vaso de envase punto 2

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A.

Figura 4-2. Puntos de muestreo del tambor y el tamizador



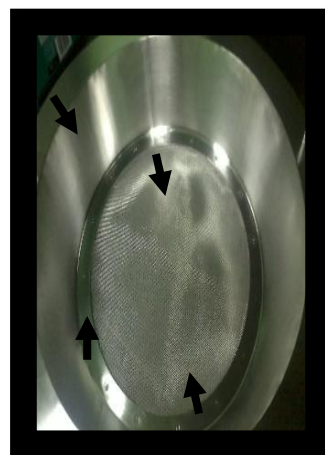
P1. Tapa



P2. Parte lisa interna del tambor

P3. Hendiduras interna del tambor.

P4.Fondo interno del tambor



P1. Tamizador parte interna superior.

P2.Tamizador borde interno

P3. Malla punto 1

P4. Malla punto 2

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A.

Nota: Para los cálculos de los límites de aceptabilidad los puntos más críticos a ser valorados por concentración de principio activo por áreas (mg/cm^2) que contiene el producto son: La Tolva, el Cilindro que contiene el tornillo sin fin, el Tamizador, El Tambor ya que son formas geométricas medibles.

- El área de muestreo debe abarcar aproximadamente 25 cm^2 , siguiendo el esquema de hisopado (Figura. 3).
- Utilizar un hisopo nuevo y especial de poliéster para cada punto durante el muestreo:
- La validación de limpieza por trazas de los equipos se realizará con tres muestreos consecutivos, siguiendo los siguientes pasos:

2.2.11.2. *Muestreo de superficies por hisopado*

Materiales

- Hisopos de poliéster (swabsTexwipe®)
- Marcador permanente
- Cartulina
- Papel aluminio
- Viales de Toc

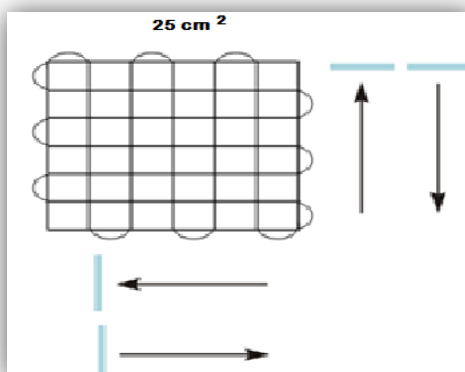
Reactivos

30 mL agua tipo reactivo para determinación de TOC (conductividad $< 1\mu\text{S}$, $\text{TOC} < 0,100$ ppmC)).

2.2.11.3. *Procedimiento*

1. Se recortan un superficie de cartón o cartulina cualquiera con una área hueca de 25cm^2 (5cmx5cm) para realizar el muestreo.
2. Se realizar el muestreo en los puntos críticos definidos para cada equipo. Equipo desmontado de la Sacheteadora, Tamizador y el Tambor del Mezclador que son Zonas de mayor contacto con el producto, luego se procederá a realizar el análisis.
3. Se utilizara un hisopo nuevo y especial de poliéster para cada punto durante el muestreo:

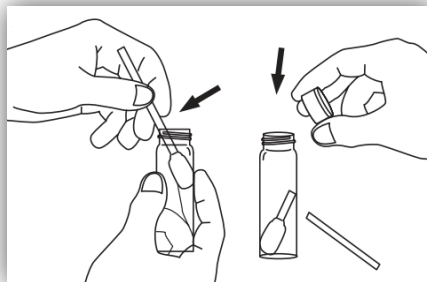
Figura 5-2. Esquema de hisopado



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A.

4. Con mucho cuidado retire la tapa del frasco
5. Sumerja el hisopo en la solución 30 mL (agua tipo reactivo para determinación de TOC) muestree en cada punto designado, siguiendo el esquema de hisopado una sola vez. (Figura 5-2).
6. Tener cuidado de que la cabeza del hisopo no sea tocada y coloque en forma inclinada en el vial prelavado que contenga exactamente 30 mL de agua tipo Reactivo, rompiendo la parte superior sobrante del hisopo (Figura 6-2).

Figura 6-2. Forma de recolección de las muestras en los viales.



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A.

7. Vuelva a colocar la tapa
8. Rotule cada uno de los frascos, especificando el lugar en el cual se tomó la muestra.
9. Las muestras se llevaran de forma eficiente y cuidadosamente al laboratorio teniendo en cuenta la mínima posibilidad de contaminación.

2.2.11.4. *Análisis Químico:*

2.2.11.5. *Inspección visual: se utiliza como primer criterio*

- Ausencia de residuos de producto.
- El equipo debe estar limpio con el último enjuague y visualmente limpio por afuera.

Si no cumple con estos requerimientos no continuar con la validación y por lo tanto no se realizara el análisis.

2.2.11.6. *Análisis de Trazas por el método HPLC*

2.2.11.6.1. *Materiales*

- Viales de 2ml Waters
- Balones aforados de 20 mL, 100 mL y 1000 mL
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 10 mL
- Pipetas graduadas de 10 mL
- Columna cromatográfica GEMINI C18 5µm 4.6 x 50mm
- Método analítico validado **AC-05-05-INF-177.01**

2.2.11.6.2. *Reactivos*

- Estándar de referencia Ac. Ascórbico: Pureza: 99.025%
- Estándar de referencia Ac. Fólico: Pureza: 97.1%
- Amoníaco 0,1%
- Buffer fosfato pH 6,4
- Metanol
- Agua

2.2.11.6.3. *Equipos*

- Balanza analítica Shimadzu AUX220/ 220 g/ D449510764
- Ultrasonido FISHER SCIENTIFIC FS30H
- Cromatograma Shimadzu HPLC (Marca: SHIMADZU, Modelo:LL-20AD)
- Equipo de filtración al vacío

2.2.11.7. Procedimiento:

Tabla 15-2. Condiciones cromatográficas para el análisis de trazas de ácido ascórbico y ácido fólico.

Fase móvil	Buffer fosfato pH 6,4 : metanol (88:12)
Columna	GEMINI C18 5µm 4.6 x 50mm
Detector de absorbancia	290nm Ac. Ascórbico 245nm. Ac. Fólico
Volumen de inyección	20µL
Velocidad de flujo	1 mL
Temperatura	30°C
Tiempo de corrida	4.5 minutos

Fuente: Ginsberg Ecuador S.A AC-05-05-INF-177.0

2.2.11.7.1. Preparación de la Solución diluyente:

Se prepara una solución amoniacal al 10%

2.2.11.7.2. Solución Buffer Fosfato pH: 6,4

Se proceder a pesar 11,6g de fosfato diácido de potasio (KH₂PO₄) y 5,50 g de fosfato monoácido de potasio (K₂HPO₄) y llevar a 1000mL con agua, se ajustara a un pH =6.4

2.2.11.7.3. Solución Estándar combinado de Ácido Fólico y Ácido Ascórbico

Solución 1: Pese con la mayor exactitud 16,0 mg de estándar de Ácido Fólico en un balón ámbar aforado de 100,0 ml, añada 30 ml del diluyente, ultrasone, afora a volumen con el diluyente y homogenice la mezcla.

Solución 2: En otro balón ámbar aforado de 100 ml, pese con la mayor exactitud 30,0 mg de estándar de Ácido Ascórbico añada 30 ml del diluyente, ultrasone. Añadir una alícuota de 1,0 ml de la SOLUCION 1, aforar con el diluyente y homogenice la mezcla,

CSt (Ácido Fólico) = 0,0016 mg/mL

CSt (Ácido Ascórbico) = 0,30 mg/mL

CÁLCULOS:

$$C_{St \text{ (Ácido Fólico)}} = \frac{W_{St}}{V_{aforo}} \times \frac{\%P_{St}}{100}$$

$$C_{St \text{ (vitamina C)}} = \frac{W_{St}}{V_{aforo}} \times \frac{V_{alícuota}}{V_{aforo}} \frac{\%P_{St}}{100}$$

2.2.11.7.4. *System Suitability*

Para la realización del presente estudio se aplicará un System Suitability del estándar utilizado y luego se inyectará cada muestra por duplicado

2.2.11.7.5. *Análisis por el método de análisis de trazas por HPLC*

- Una vez recolectados los viales de las muestras se ultrasonarán por 30min
- Luego se tomará una alícuota de este vial para colocar en los viales del equipo HPLC
- El blanco será el agua tomado del purificador
- Luego se tomará una alícuota de este vial para colocar en los viales del equipo HPLC
- El método de análisis aplicado para la determinación de trazas de Ácido Ascórbico 30ug/g + Ácido Fólico 160ug/g en la producción de LIMERICHIS PLUS SOBRES es el certificado por Ginsberg Ecuador S.A.
- Se realizará el estudio aplicando un System Suitability del estándar utilizado y luego por duplicado se inyectará cada muestra
- Se determinará la concentración mediante el método analítico aplicado y se comparará con el límite deducido bajo el siguiente criterio de aceptación

2.2.11.8. *Criterio de aceptación*

- Después de haberse realizado el proceso de limpieza no deben existir residuos visibles, Si no cumple con estos requerimientos no continuar con el análisis.
- Las trazas de residuos de producto, agentes de limpieza deberán cumplir con las Especificaciones preestablecidas.
- Para el análisis de trazas se determina en base al límite de aceptabilidad que será el valor más exigente resultante de aplicar los tres criterios detallados a continuación.

1er Criterio

$$\frac{0,001 * d}{D} \times \frac{U}{S} \times s$$

Donde:

d: dosis terapéutica mínima diaria de principio activo

D: es el número máximo de unidades de dosis por día

U: es el tamaño de lote expresado en número de unidades de dosis

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

d: mg /día

D: dosis / día

U: sobres.

s: 25 cm²

S: cm²

1er criterio ——— x ———

2do Criterio

$$10 ppm \times \frac{T}{S} \times s$$

Donde:

T: Tamaño final del lote en Kg

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

T: Kg

s: 25 cm²

S: cm²

2do criterio x — x S

3er criterio: < 400 µg/ cm² o 0,4 mg/ cm²

2.2.11.9. Resultados

Una vez finalizado el análisis se deberá elaborar un informe y se verificara el cumplimiento de los parámetros y requisitos del proceso.

2.2.11.10. Acciones correctivas

Si los resultados de las muestras químicas se encuentran fuera de los límites (especificaciones) determinados, se informará inmediatamente al Jefe de área y se tomarán acciones correctivas conjuntamente con Control de Calidad y Dirección Técnica.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro No 1-3. Cálculo teórico de concentraciones, áreas. Para el límite de detección y cuantificación de ácido ascórbico.

Porcentaje % concentración	Concentración mg/mL	Áreas (UA)
100%	0.300	3599249,94
10%	0,030	359924,994
20%	0,060	719849,988
30%	0,090	1079774,982
40%	0,120	1439699,976

Fuente: Darwin Arízaga.

En este caso debido a que las concentraciones de ácido ascórbico son muy pequeñas, se utilizó un estándar al 100%. Para la determinación de límite de detección y cuantificación de ácido ascórbico.

Para los cálculos de concentraciones se calculara tomando el área del 100% del estándar que corresponde a una concentración de 0.30 mg/mL de ácido ascórbico y luego se realizara los cálculos aplicando las formulas teóricas para las siguientes concentraciones al 10%, 20%, 30, 40%.

Para el cálculo de las áreas de cada concentración se tomara de referencia base el área del estándar del 100% y las concentraciones ya calculadas.

Cuadro No 2-3. Cálculo teórico desviación estándar. Para el límite de detección y cuantificación de ácido ascórbico.

Concentración	30,00	60,00	90,00	120,00
	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL
Área	359924,994	719849,988	1079774,982	1439699,976
	359922,994	719850,988	1079773,982	1439698,976
Promedio	359924,994	719850,488	1079774,482	1439699,476
Desviación Estándar	1,41421	0,70711	0,70711	0,70711

Fuente: Darwin Arízaga.

Para el cálculo de la desviación estándar teórica de ácido ascórbico se tomaron el área ya calculada y otra área que difiera en lo más mínimo de la anterior.

Cuadro No 3-3. Linealidad de la concentración vs áreas de ácido ascórbico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC)

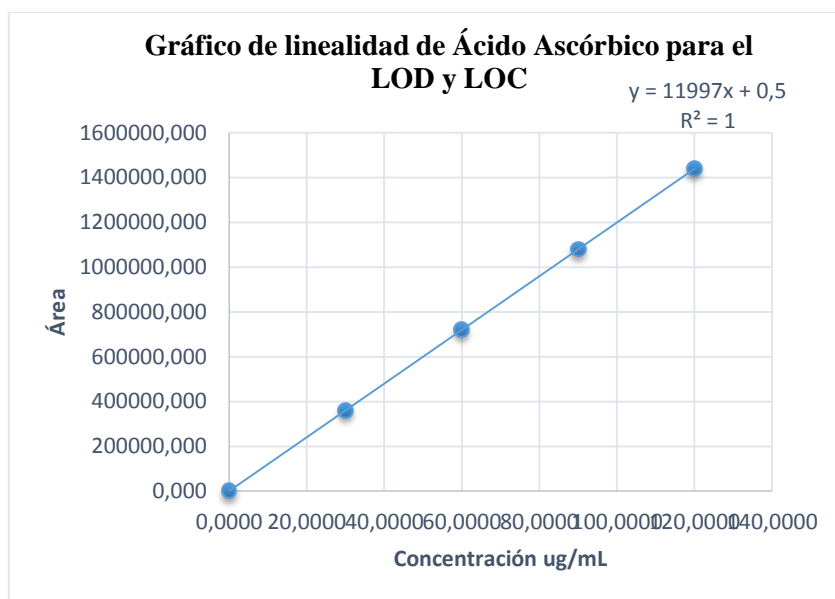
Conc. (ug/mL)	Área
30.00	359924,994
60.00	719850,488
90.00	1079774,482
120.0	1439699,476
0,000	0,500 Ybl

Fuente: Darwin Arízaga.

coef. de correlación :	1
intercepto (a) :	0,5000
pendiente (b) :	11997,491

Observamos que el coeficiente de relación es 1 lo que nos dice que existe una relación lineal perfecta (con pendiente positiva).

Gráfico No 1-3. Linealidad de ácido ascórbico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC)



Fuente: Darwin Arízaga.

Como se observa en el gráfico todas las concentraciones ácido ascórbico se encuentran directamente proporcional con las áreas.

Cuadro No 4-3. Desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido ascórbico

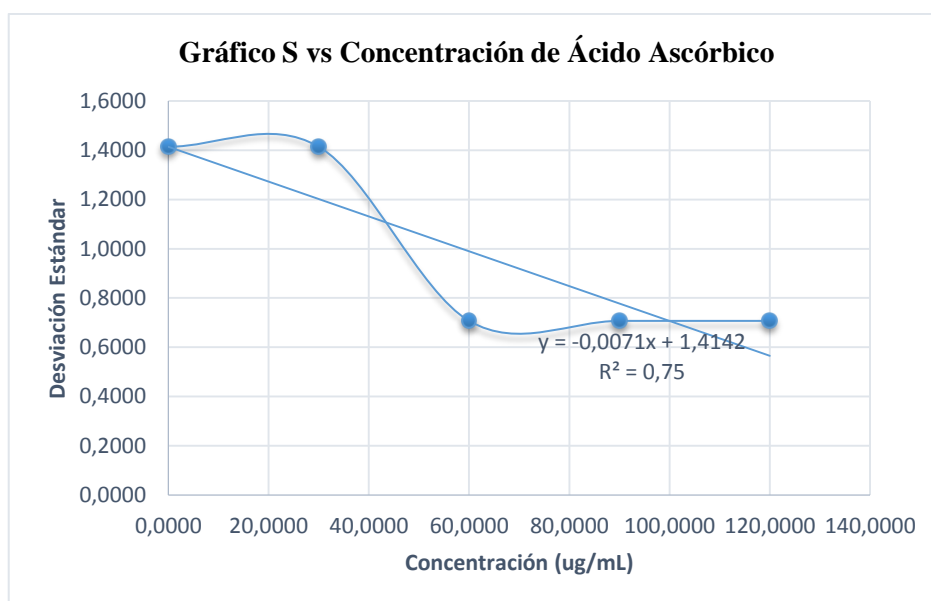
Desviación estándar (S) a las diferentes concentraciones		
Concentración	Desv. Estándar	
µg/mL		
30,00	1,4142	
60,00	0,7071	
90,00	0,7071	
120,0	0,7071	
0,000	1,4142	S _{bl}

Fuente: Darwin Arízaga.

coef. de correlación :	-0,75
intercepto (a) :	1,4142
pendiente (b) :	-0,0071

El coeficiente de correlación es negativo lo que nos indica que es funcional cuando se acerque a -1, lo que da una determinación absoluta entre las dos variables (en sentido inverso): en donde existe una relación lineal con pendiente negativa.

Gráfico No 2-3. Curva de la desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido ascórbico



Fuente: Darwin Arízaga.

El gráfico nos indica que existe una relación lineal entre la desviación estándar y las concentraciones donde las dos variables se correlacionan en sentido inverso. A valores altos de una de ellas le corresponderá un valor bajo de la otra o viceversa

Pendiente (b) 11997,49147

Y_{bl} 0,5000

S_{bl} 1,4142

$$\text{Límite de detección: } \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} = 0,0004 \mu\text{g/mL} = 4 \times 10^{-7} \text{ mg/mL}$$

$$\text{Límite de cuantificación: } \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} = 0,0012 \mu\text{g/mL} = 1.2 \times 10^{-6} \text{ mg/mL}$$

Cuadro No 5-3. Cálculo teórico de concentraciones, áreas, para el límite de detección y cuantificación de ácido fólico.

Porcentaje concentración %	Concentración mg/mL	AREAS (UA)
100%	0,0016	117655,96
10%	0,00016	11765,596
20%	0,00032	23531,192
30%	0,00048	35296,788
40%	0,00064	47062,364

Fuente: Darwin Arízaga.

En este caso debido a que las concentraciones de ácido ascórbico son muy pequeñas, se utilizó un estándar al 100%. Para la determinación de límite de detección y cuantificación de ácido ascórbico.

Para los cálculos de concentraciones se calculara tomando el área del 100% de la muestra que corresponde a una concentración de 0.0016 mg/mL de ácido fólico y luego se realizara los cálculos aplicando las formulas teóricas para las siguientes concentraciones al 10%, 20%, 30, 40%.

Para el cálculo de las áreas de cada concentración se tomara de referencia base el área del estándar del 100% y las concentraciones ya calculadas.

Cuadro No 6-3. Cálculo teórico desviación estándar. Para el límite de detección y cuantificación de ácido fólico

Concentración	0,16	0,32	0,48	0,64
	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/mL}$
Área	11765,596	23531,192	35296,788	47062,364
	11764,596	23532,192	35294,788	47060,364
Promedio	11765,096	23531,692	35295,788	47061,364
Desviación Estándar	0,70711	0,70711	1,41421	1,41421

Fuente: Darwin Arízaga.

Para el cálculo de la desviación estándar teórica del ácido fólico se tomaron el área ya calculada y otra área que difiera en lo más mínimo de la anterior.

Cuadro No 7-3. Linealidad de la concentración vs áreas de ácido fólico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC)

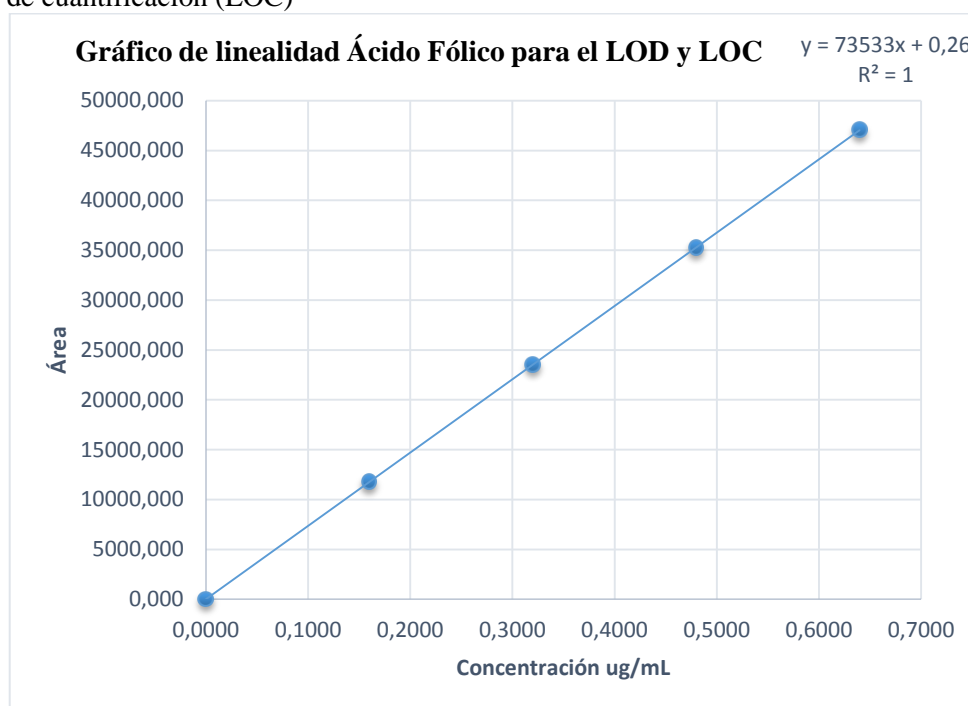
Conc. (ug/mL)	Área(UA)
0,1600	11765,096
0,3200	23531,692
0,4800	35295,788
0,6400	47061,364
0,0000	0,260 Ybl

Fuente: Darwin Arízaga.

coef. de correlación :	1,0000
intercepto (a) :	0,2600
pendiente (b) :	73533,063

Observamos que el coeficiente de relación es 1 lo que nos dice que existe una relación lineal perfecta (con pendiente positiva).

Gráfico No 3-3. Linealidad de ácido fólico para determinar el límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOC)



Fuente: Darwin Arízaga.

Como se observa en el gráfico todas las concentraciones ácido fólico se encuentran directamente proporcional con las áreas.

Cuadro No 8-3. Desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido fólico

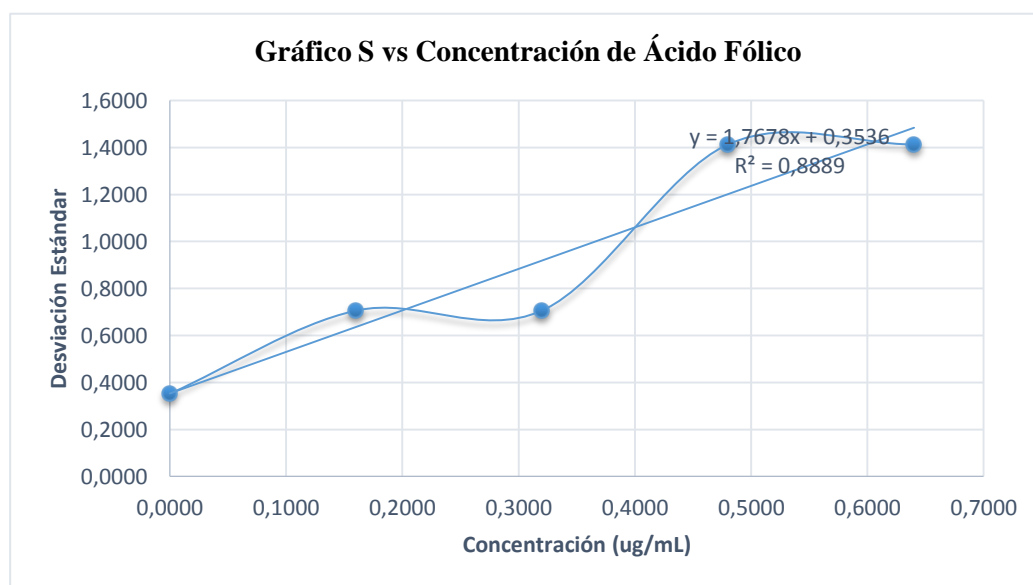
Desviación estándar (S) a las diferentes concentraciones	
Concentración	Desv. Estándar
µg/mL	
0,00	0,3536
0,160	0,7071
0,320	0,7071
0,480	1,4142
0,640	1,4142

Fuente: Darwin Arízaga.

coef. de correlación :	0,88
intercepto (a) :	0.3536
pendiente (b) :	1,7678

La el coeficiente de correlación es positivo lo que nos indica es que es funcional cuando se acerque a 1, lo que da una determinación absoluta entre las dos variables (en sentido directo): en donde existe una relación lineal con pendiente positiva.

Gráfico No 4-3. Curva de la desviación estándar (s) vs concentración. Para determinar el LOD y LOC de ácido fólico



Fuente: Darwin Arízaga

El gráfico nos indica que existe una relación lineal entre la desviación estándar y las concentraciones donde las dos variables se correlacionan en sentido directo.

Pendiente (b) 73533,06250

Ybl 0,2600

Sbl 0,3536

$$\text{Límite de detección: } \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} = 0,00002 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2 \times 10^{-8} \text{ mg/mL}$$

$$\text{Límite de cuantificación: } \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} = 0,00005 \text{ } \mu\text{g/mL} = 5 \times 10^{-8} \text{ mg/mL}$$

Cuadro No 9-3. Análisis químico del estándar de ácido ascórbico y ácido fólico: primer muestreo, segundo muestreo y tercer muestreo promedio de las áreas obtenidas durante cada inyección. Realizado en el laboratorio de control de calidad, laboratorio farmacéutico Ginsberg Ecuador S.A. Quito, 2014.

st. Ácido Ascórbico + st. Ácido Fólico	ÁREAS (1er muestreo) Lote: 14846		ÁREAS (2do muestreo) Lote: 141069		ÁREAS (3er muestreo) Lote: 141105		Especificación (Sistem Suitability)
	Ácido. Ascórbico	Ácido Fólico	Ácido. Ascórbico	Ácido Fólico	Ácido. Ascórbico	Ácido Fólico	
1	36966528.9	116684.4	4731823.9	104735.2	4652208.3	107555.7	RSD ≤ 2%
2	3617559.8	118435.8	4607707.6	104959.2	4637850.4	107423.4	
3	3563780.3	117642.6	4681344.4	106261.0	4609643.8	107467.2	
4	3558614.6	117813.9	4637833.8	106322.9	4563636.6	107524.8	
5	3559766.1	117703.1	4609013.1	106358.6	4512818.1	109837.4	
\bar{X}	3599249.9	117655.9	4654744.6	105727.4	4595231.4	107961.7	
Ds	59721.7	628.4	48553.6	808.2	57141.5	1049.8	
RSD %	1.6 %	0.5%	1.0 %	0.8%	1.2%	0.9%	

Fuente: Darwin Arízaga.

Como se observa en el cuadro n^o 3-3. Se muestran las áreas del estándar tanto de ácido ascórbico y ácido fólico luego de haberse ejecutado el Sistem Suitability el cual consiste en realizar 5 inyecciones del estándar para verifica su adecuado funcionamiento de equipo para el análisis en cuanto a resolución, precisión, exactitud, y demás parámetros para lo cual se tomó un peso de ác. Ascórbico de 30 mg y de ác. Fólico 16 mg y se obtuvo un RDS % ≤ 2% de acuerdo a lo especificado lo cual indica que el equipo y demás componentes están perfectas condiciones para continuar con el análisis.

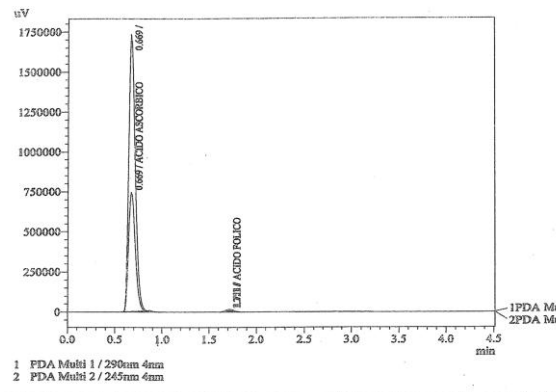
Los resultados encontrados en el estudio de LOS TRES LOTES MUESTREADOS: códigos de lote 14846,141069, 141105 con los principios activos analizados demuestran que no pueden ser cuantificados debido a que el tiempo de retención del ácido ascórbico en las muestras analizadas corresponde a una polaridad negativa, y que puede ser inducida por el solvente utilizado, mientras que las concentraciones de ácido fólico debido a que las sus concentraciones son

demasiado bajas el equipo no las detecta. Como se muestran en los cromatogramas obtenidos los mismos que se encuentran debajo de límite de residuo permitido.

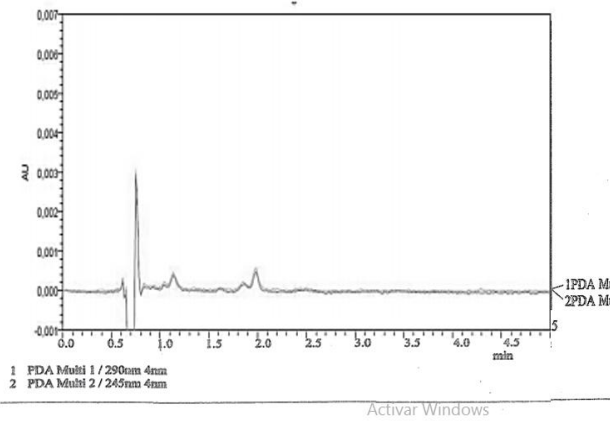
Para conocer el límite de aceptación de residuo de ácido ascórbico y ácido fólico se tomó en consideración la aplicación de los tres criterios de aceptación, donde se toma el valor más exigente resultante de aplicar los tres criterios.

Figura 7-3 Cromatogramas del análisis de trazas

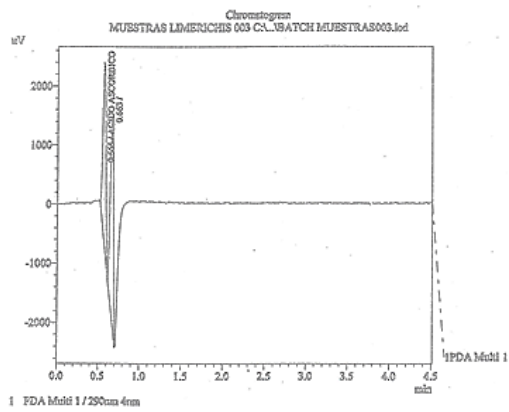
Patrón ác. Ascórbico de 30mg y de ác.
Fólico 16mg



Blanco hisopo poliéster



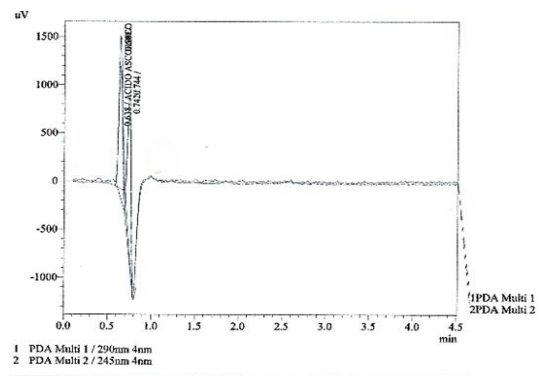
Mezclado Punto 1



LOTE: 14846
MEZCLADOR PUNTO 1

Quantitative Results					
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	ACIDO ASCORBICO	0.555	7489	2941	0.099
2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

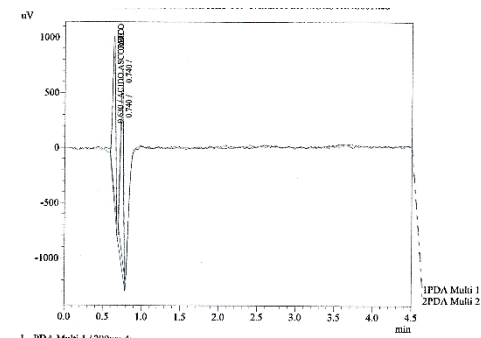
Mezclador Punto 2



MEZCLADOR PUNTO 2
LOTE: 14846

Quantitative Results					
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	ACIDO ASCORBICO	0.638	3992	1352	0.000
2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

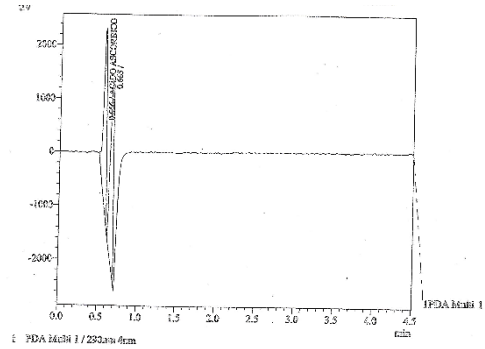
Mezclador Punto 3



MEZCLADOR PUNTO 3
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.630	3322	1140
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0
					Conc.
					0.000

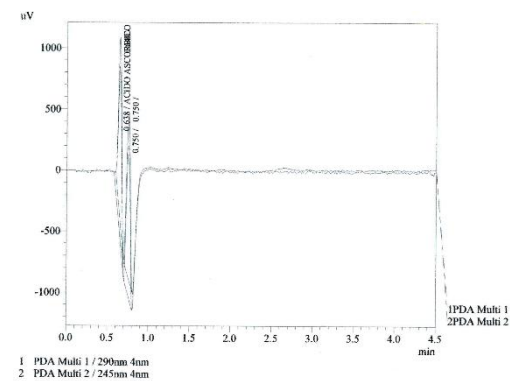
Mezclador Punto 4



LOTE: 14846
MEZCLADOR PUNTO 4

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.555	8264	3193
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0
					Conc.
					0.000

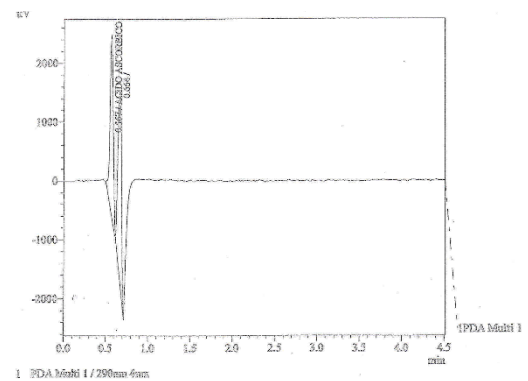
Tamizador Punto 1



TAMIZADOR PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.638	3357	1176
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0
					Conc.
					0.000

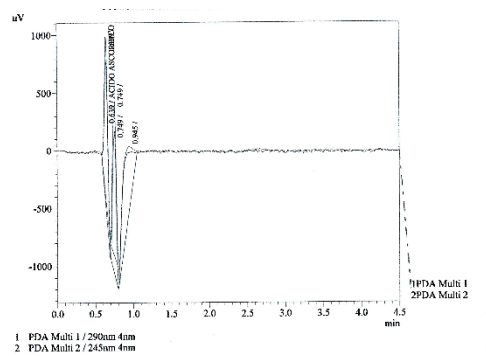
Tamizador Punto 2



LOTE: 14846
TAMIZADOR PUNTO 2

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.567	6137	3037
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0
					Conc.
					0.000

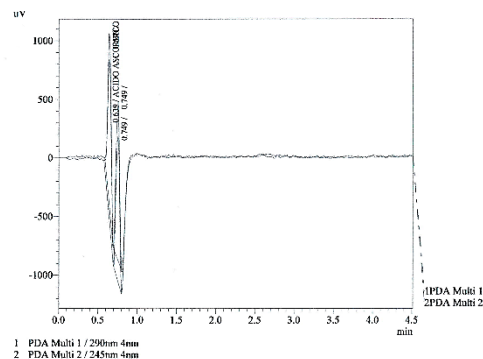
Tamizador Punto 3



TAMIZADOR PUNTO 3
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.639	3534	1191
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0

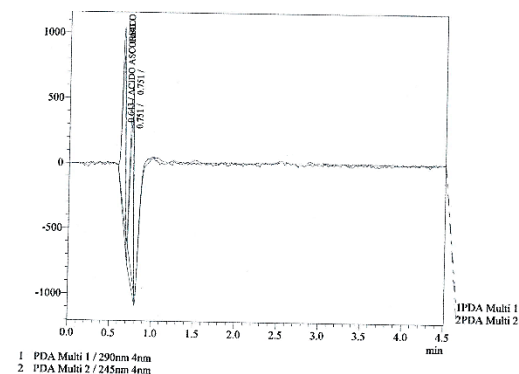
Tamizador Punto 4



TAMIZADOR PUNTO 4
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.639	3579	1212
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0

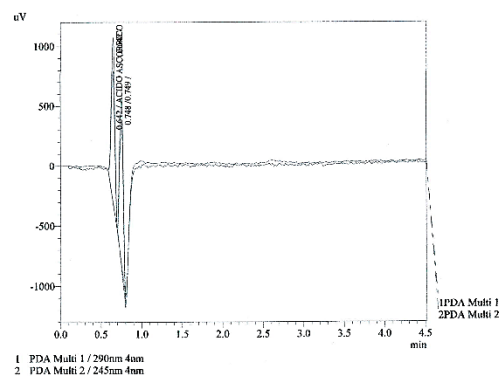
Tolva Superior



TOLVA SUPERIOR
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.643	3308	1134
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0

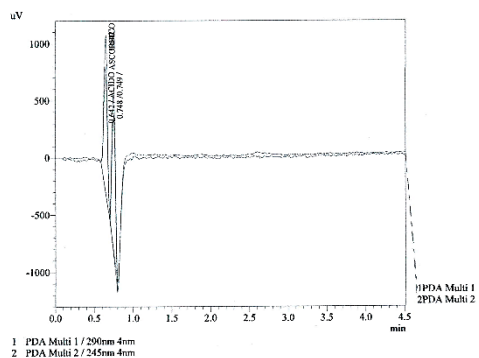
Tolva Superior Punto 1



TOLVA 2 PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.642	3166	1078
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0

Tolva Superior Punto 2

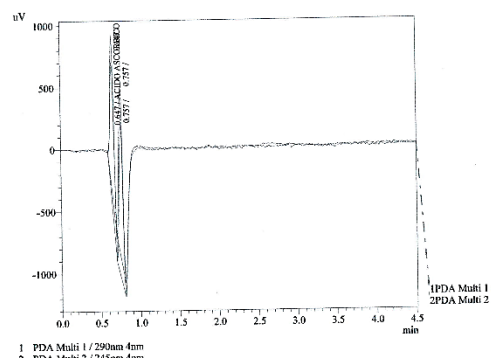


TOLVA 2 PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results

PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
	1	ACIDO ASCORBICO	0.642	3166	1078	0.000
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

Tornillo Sin Fin Punto 1

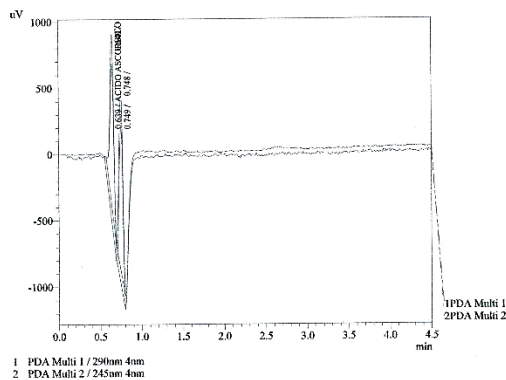


TORNILLO SIN FIN PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results

PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
	1	ACIDO ASCORBICO	0.647	2970	1037	0.000
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

Tornillo Sin Fin Punto 2

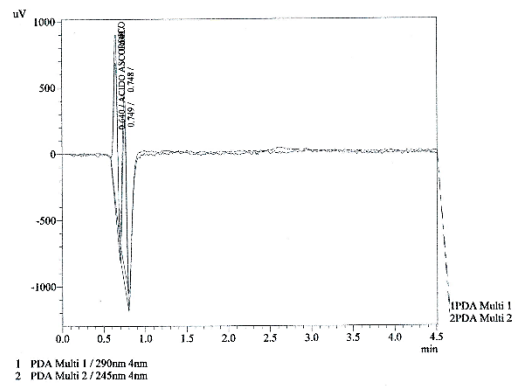


TORNILLO SIN FIN PUNTO 2
LOTE: 14846

Quantitative Results

PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
	1	ACIDO ASCORBICO	0.639	3303	1079	0.000
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

Removedor Punto 1

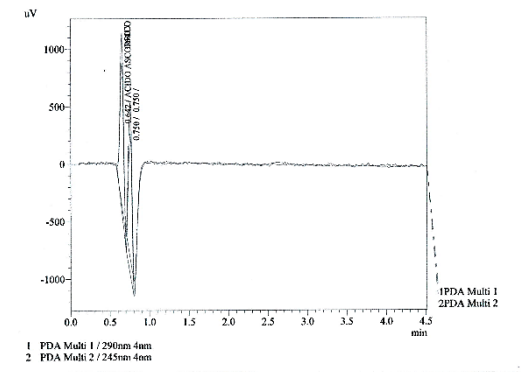


REMOVEDOR PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results

PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
	1	ACIDO ASCORBICO	0.640	3084	1034	0.000
	2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

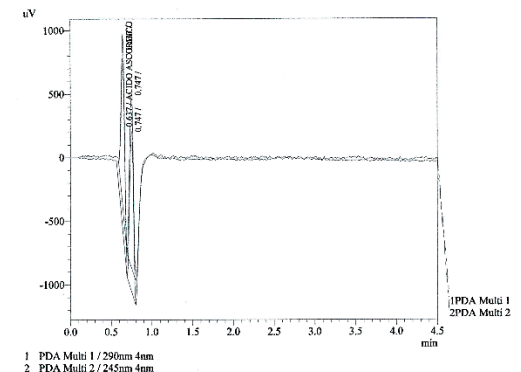
Removedor Punto 2



REMOVEDOR PUNTO 2
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA					
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	ACIDO ASCORBICO	0.642	3652	1208	0.000
2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

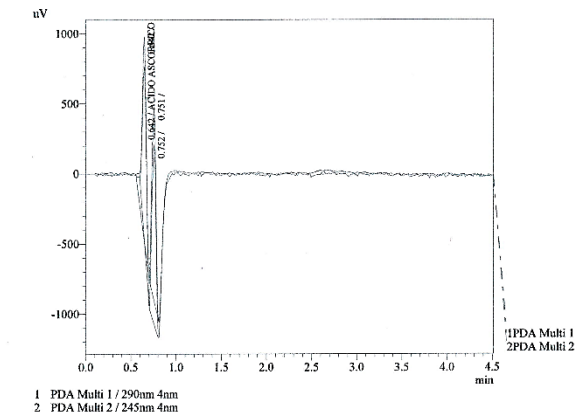
Tornillo dosificador Punto 1



TORNILLO DOSIFICADOR PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA					
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	ACIDO ASCORBICO	0.637	3279	1141	0.000
2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

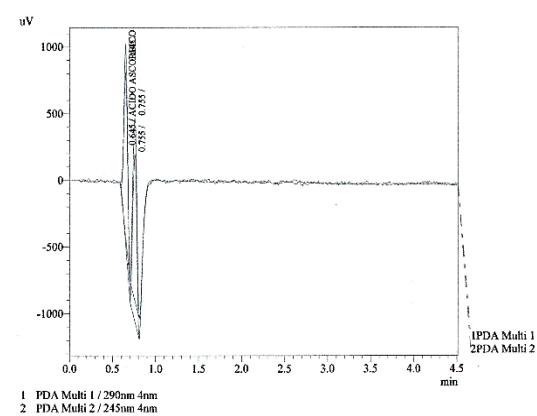
Tornillo dosificador Punto 2



TORNILLO DOSIFICADOR PUNTO 2
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA					
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	ACIDO ASCORBICO	0.642	4059	1220	0.000
2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

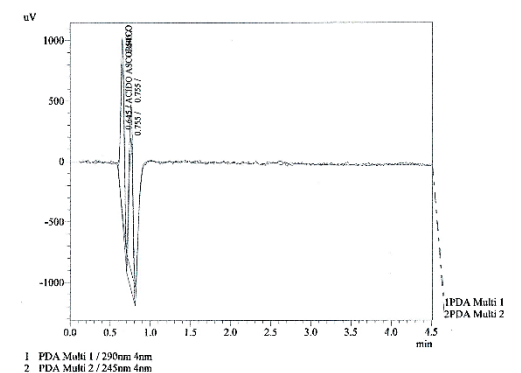
Vaso dosificador Punto 1



VASO DOSIFICADOR PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA					
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.
1	ACIDO ASCORBICO	0.645	3533	1195	0.000
2	ACIDO FOLICO	0.000	0	0	0.000

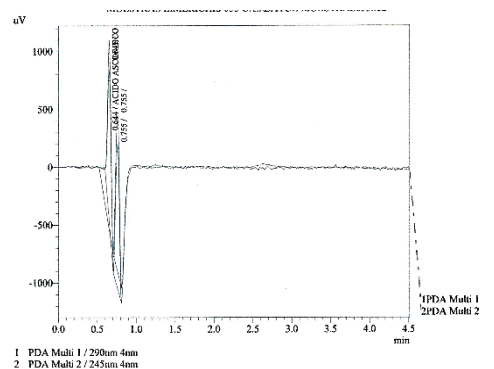
Vaso dosificador Punto 2



VASO DOSIFICADOR PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.645	3533	1195
	2	ACIDO FOLICO	0.900	0	0
Conc.					
					0.000

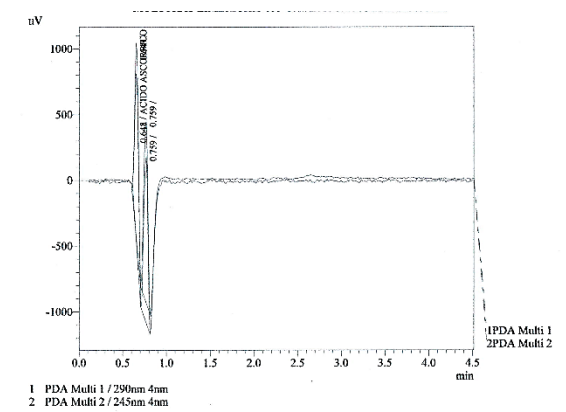
Vaso Envase Punto 1



VASO DE ENVASE PUNTO 1
LOTE: 14846

Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.644	5046	1353
	2	ACIDO FOLICO	0.900	0	0
Conc.					
					0.000

Vaso de envase Punto 2



VASO DE ENVASE PUNTO 2
LOTE: 14846

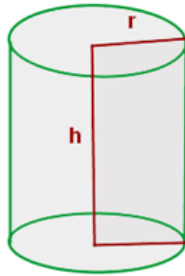
Quantitative Results					
PDA	ID#	Name	Ret. Time	Area	Height
	1	ACIDO ASCORBICO	0.648	3529	1210
	2	ACIDO FOLICO	0.900	0	0
Conc.					
					0.000

APLICACIÓN DE LOS CRITERIOS DE ACEPTACIÓN.

Para los cálculos de los límites de aceptabilidad, los puntos más críticos valorados por concentración de principio activo por áreas (mg/cm^2) que están en contacto con el producto fueron: la Tolva, el Cilindro que contiene el tornillo sin fin, el Tamizador y El Tambor porque son formas geométricas medibles.

CÁLCULOS DE ÁREA: TOLVA, EL CILINDRO QUE CONTIENE EL TORNILLO SIN FIN, EL TAMIZADOR Y EL TAMBOR YA QUE SON FORMAS GEOMÉTRICAS MEDIBLES.

ÁREA DEL TAMBOR:



Datos

Diámetro 56.5cm

Altura (h) 87,5cm

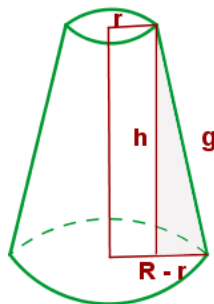
radio (r) 28,25

$$S = 2\pi r^2 + 2\pi rh$$

$$S = 2\pi(28,25cm)^2 + 2\pi(28,25cm)(87,5cm)$$

$$S = 20545,62cm^2$$

ÁREA DEL TAMIZADOR:



Datos**Diámetro 1** 64 cm**Diámetro 2** 33.3 cm**Altura(h)** 12.5 cm**Radio mayor(R)** 32 cm**Radio menor(r)** 16.65 cm

La generatriz (g) es el segmento que une dos puntos del borde de las dos bases.

$$g^2 = h^2 + (R - r)^2$$

$$g^2 = 12.5^2 + 32 - 16.65^2$$

$$g = \sqrt{248.1225}$$

$$g = 15.75$$

$$S = \pi[g(R + r) + R^2 + r^2]$$

$$S = \pi[15.75(32 + 16.65) + (32)^2 + (16.65)^2]$$

$$S = 6495.11$$

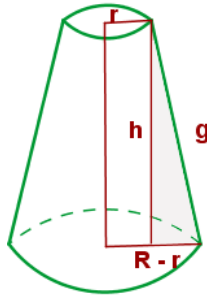
ÁREA DEL CILINDRO QUE CONTIENE EL TORNILLO SIN FIN:**Datos****Diámetro** 10 cm**Altura(h)** 97 cm

$$S = 2\pi r^2 + 2\pi rh$$

$$S = 2\pi(157.08cm)^2 + 2\pi(5cm)(97,5cm)$$

$$S = 3204,42cm^2$$

ÁREA DE LA TOLVA:



Datos

Diámetro 1 34.5 cm

Diámetro 2 10 cm

Altura(h) 30 cm

Radio mayor(R) 17.25 cm

Radio menor(r) 4 cm

La generatriz (g) es el segmento que une dos puntos del borde de las dos bases.

$$g^2 = h^2 + (R - r)^2$$

$$g^2 = 30cm^2 + 17.25cm - 4cm^2$$

$$g = \sqrt{205.56cm^2}$$

$$g = 14,34cm$$

$$S = \pi[g(R + r) + R^2 + r^2]$$

$$S = \pi[14.34cm(17.25cm + 4cm) + (17,25cm)^2 + (4cm)^2]$$

$$S = 1942.41cm^2$$

$$\Sigma_{\text{Áreas}} = \Sigma_{\text{Área}} \text{ Tambor} + \Sigma_{\text{Área}} \text{ Tolva} + \Sigma_{\text{Área}} \text{ Cilindro del tornillo sin fin} + \Sigma_{\text{Área}} \text{ Tamizador}$$

$$\Sigma_{\text{Áreas}} = 20545,62 \text{ cm}^2 + 1942,41 \text{ cm}^2 + 3204,42 \text{ cm}^2 + 6495,11 \text{ cm}^2$$

$$\Sigma_{\text{Áreas comunes}} = 32187,56 \text{ cm}^2$$

CRITERIO DE ACEPTABILIDAD PARA EL ÁCIDO FÓLICO

1er criterio

$$\frac{0,001 * d}{D} \times \frac{U}{S} \times s$$

d: 0,175 mg /día

D: 1 dosis / día

U: 70000 sobres.

s: 25 cm²

S: 32187.56 cm²

Dónde:

d: dosis terapéutica mínima diaria de principio activo

D: es el número máximo de unidades de dosis por día

U: es el tamaño de lote expresado en número de unidades de dosis

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

1er criterio

_____ x _____

1ppm = 1mg/kg

$$0,001 \text{ ppm} \times \frac{1 \text{ mg/kg}}{1 \text{ ppm}} = \frac{0,001 \text{ mg}}{\text{kg}} \times \text{kg}$$

1er criterio = 0,001 mg

2do criterio

$$10 \text{ ppm} \times \frac{T}{S} \times s$$

T: 70 Kg

s: 25 cm²

S: 32187.56 cm²

Dónde:

T: Tamaño final del lote en Kg

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

2do criterio x x

1 ppm = 1 mg/kg

$$0,54 \text{ ppm} \times \frac{1 \text{ mg/kg}}{1 \text{ ppm}} = \frac{0,54 \text{ mg}}{\text{kg}} \times \text{kg}$$

2do criterio = 0,54 mg

3er criterio: < 400 µg/ cm² o 0,4 mg/ cm²

CRITERIOS DE ACEPTABILIDAD PARA EL ÁCIDO ASCÓRBICO

1er criterio

$$\frac{0,001 * d}{D} \times \frac{U}{S} \times s$$

d: 20 mg /día

D: 1 dosis / día

U: 70000 sobres.

s: 25 cm²

S: 32187.56 cm²

Donde:

d: dosis terapéutica mínima diaria de principio activo

D: es el número máximo de unidades de dosis por día

U: es el tamaño de lote expresado en número de unidades de dosis

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

1er criterio

_____ x _____

1 ppm = 1 mg/kg

1er criterio = 1,08 mg

2do criterio

$$10 \text{ ppm} \times \frac{T}{S} \times s$$

T: 70 Kg

s: 25 cm²

S: 32187.56cm²

Dónde:

T: Tamaño final del lote en Kg

s: área estándar hisopada 25 cm²

S: sumatoria de áreas comunes

2do criterio x x

1ppm = 1mg/kg

$$0,54 \text{ ppm} \times \frac{1 \text{ mg/kg}}{1 \text{ ppm}} = \frac{0,54 \text{ mg}}{\text{kg}} \times \text{kg}$$

2do criterio= 0,54 mg

3er criterio: < 400 µg/ cm² o 0,4 mg/ cm²

Todos los criterios fueron evaluados tanto para ácido fólico como ácido ascórbico y se escogió el de menor valor como límite de residuos en los equipos después de haberse ejecutado la limpieza, para el ácido fólico se tomara a consideración el primer criterio límite de 0.001 mg de ácido fólico / 25cm² y para ácido ascórbico el tercer criterio limite menor a 0.4 mg de ácido ascórbico /25 cm² para los equipos utilizados en la producción de ácido ascórbico y ácido fólico –forma farmacéutica polvo para suspensión oral

TABLA 16-3. Resumen de resultados

API	CRITERIO	LAR	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADO
Análisis de trazas (Ácido Fólico)	1er criterio	0,001mg	FDA	ND
Análisis de trazas (Ácido Ascórbico)	3er criterio	0.4 mg	FDA	ND

Fuente: Darwin Arízaga

*ND= No Detectable bajo las condiciones analíticas

*Condiciones Analíticas Limite de detección para Ácido Fólico = 2x10⁻⁸ mg/mL

*Condiciones Analíticas Limite de detección para Ácido Ascórbico= 4x10⁻⁷ mg/mL

La tabla muestra que habitualmente no se detectan residuos de ácido ascórbico y ácido fólico ya que se están por debajo del límite de aceptación de residuo permitido lo cual demuestra que el proceso de limpieza es efectiva para remover el residuo consistentemente. En conclusión se pudo comprobar que los procesos de limpieza de los equipos y áreas estudiados son efectivos, de forma consistente, para la eliminación de los residuos de Ácido Ascórbico y Ácido Fólico presentes luego de la fabricación de dicho producto,

CONCLUSIONES

1. Se logró determinar cada uno de los puntos críticos de muestreo, considerando la dificultad de acceso y dificultad de limpieza de cada uno de los equipos utilizados en la producción mostrados en la tabla 12-2, 13-2, 14-2, todos estos puntos se utilizaron para el posterior análisis.
2. Los resultados obtenidos en el estudio de tres lotes de los API's analizados para la determinación de trazas mediante el método analítico validado previamente en un estudio anterior, muestra que no pueden ser cuantificadas debido a que el tiempo de retención del ácido ascórbico en las muestras analizadas corresponde a una polaridad negativa que puede ser inducida por el solvente utilizado, mientras que para el ácido fólico el equipo no lo detecta, con lo cual se concluye que las muestras presentan concentraciones de ácido ascórbico y fólico menores al límite cuantificación teórico y al límite de aceptación de residuos.
3. Se determinó el límite de detección y cuantificación teóricos para este estudio mediante las formulas explicadas en los resultados, se calcularon las áreas por medio del software LC Solutions de Shimadzu para determinar la concentración de las muestras frente a un estándar de concentración 100% de cada uno de los principios activos analizados.
4. Se logró determinar que el valor límite de aceptabilidad de trazas después de la limpieza en los equipos para lo cual se utilizó como referencia tres criterios según la FDA Siendo el valor menor el más exigente y resultante el que se tomara como referencia para el ácido fólico el primer criterio como límite de residuos aceptables 0,001 mg de ácido fólico /cm² y el Tercer criterio para el ácido ascórbico el límite de 0.4 mg de ácido ascórbico / cm².
5. En el estudio se verificó que la limpieza está siendo ejecutado correctamente mediante el análisis de trazas realizado, dado que se comprobó que éstas son muy inferiores al límite de cuantificación teórico como para poder ser cuantificadas por el método analítico aplicado. Por lo que, cabe la posibilidad que existan concentraciones mucho menores, sin embargo al ser concentraciones muy disminuidas se considera que el límite de residuos es aceptable y seguro..

RECOMENDACIONES

1. Para un estudio más exhaustivo y la determinación de la concentración de trazas de estos principios activos se recomienda utilizar equipos más sofisticados como: UPLC. (ultra cromatografía líquida de alta resolución . Espectroscopía de masas
2. El material de que se recomienda para el hisopado del método directo es preferible que se un hisopo de poliéster ya que presenta un bajo nivel de carbono orgánico total y se utiliza para analizar la presencia o no del API adherido al mismo.
3. Para determinar las concentración de las muestras se lo realiza por áreas y solo si el pico se encuentra sobre la línea base podrá ser cuantificado, caso contrario sería imposible cuantificar.
4. Se debe utilizar viales nuevos completamente limpios tanto para el estándar como las muestras para el análisis de trazas, ya que si no lo están podría proporcionar unos resultados falsos positivos.
5. Todos los equipos y componentes deberán almacenarse secos y cubiertos después de haberse realizado la limpieza para evitar posibles contaminaciones.
6. Todos los operadores del área de limpieza deben conocer cómo afectan a la salud de un individuo si la ejecución de la limpieza no se realiza correctamente para la posterior producción de un lote.

BIBLIOGRAFÍA:

AGUIRRE, O. y otros. Validación de métodos analíticos. Asociación española de farmacéuticos de la industria A.E.F.I. Barcelona-España. 3. ed. Bisbal. (2001).p p. 11-15, 86-94
Disponible: http://www.aefi.org/detalle-publicacion.aspx?id_publicacion=78
2014-11-11

A SECTOR GROUP OF CEFIC. Guidance On Aspects Of Cleaning Validation In Active Pharmaceutical Ingredient Plants. (2000).p.p 30-39
Disponible: <http://apic.cefic.org/pub/pub-cleaning-validation.pdf>
2014-11-11

AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS. Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Madrid-España, Anexo 15. Cualificación y validación. (2000). pp. 6,9.
Disponible en:
http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/anexos/28_anexo-15.pdf
2014-11-11

CASTELLANOS GUANANGA V.G. Validación Del Método De Limpieza De La Envasadora De Cremas COMADIS en la Empresa Ginsberg S.A. Mediante el Método del TocFusion. Tesis de Grado. Riobamba .Escuela Politécnica Superior de Chimborazo. (2012). pp. 22,23.
Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2589/1/56T00366.pdf>
2014-11-11

DRA. BERNAD, MJ. FORMAS FARMACEUTICAS SOLIDAS. Disponible en:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Tema2-Parte1-Polvos_15159.pdf
2014-11-11

ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. SECRETARÍA DE SALUD. Proyecto de norma oficial mexicana PROY-NOM-257-SSA1-2013, autorización de medicamentos, registro, renovación y modificaciones. 2013.
Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5298031&fecha=06/05/2013
2014-11-11

FDA. Guide to Inspections of Validation of Cleaning Processes, Division of Investigations, Office of Regional Operations, Office of Regulatory Affairs(Rockville, MD), July 1993
Disponible en:<http://www.fda.gov/iceci/inspections/inspectionguides/ucm074922.htm>
2014-11-11

FOURMAN, G.L. & MULLEN, M.V. "Determining Cleaning Validation Acceptance Limits for Pharmaceutical Manufacturing Operations," Pharm. Technol. (1993).17 (4), 54–60
2014-11-11

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Nutrición humana en el mundo en desarrollo. Vitaminas. Producido por: Departamento de Agricultura. (2002). Capítulo 11.
Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0f.htm#TopOfPage>
2014-11-11

FORERO VARGAS R.A, PIEDRAHITA NAVARETE D.C. Análisis y evaluación de los procesos de limpieza manual de equipos de manufactura en una industria nutracéutica. Trabajo de Grado. EE.UU. Pontificia Universidad Javeriana., (2008). pp.39.
Disponible en: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis152.pdf>
2014-11-11

FEKETE S, FEKETE J, GANZLER K. Validated UPLC method for the fast and sensitive determination of steroid residues in support of cleaning validation in formulation area. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. (2009). Vol.(49).pp 833–838.
2014-11-11

FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS. México. Publicaciones e Impresiones de Calidad, S.A. de C.V. Ignacio Mariscal 102, Colonia Tabacalera. (2011).pp7,8,10. [Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/132002975/FEUM-10-Ed-TOMO-I>]
2014-11-11

GERENCIA GENERAL DE INSPECCIÓN Y CONTROL DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS – GGIMP. Guías Relacionadas a La Garantía De Calidad. Brasil (2006).
Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/60238502/24350392-Validacion-de-Limpieza-Portugues-Espanol-1>
2014-11-11

GINSBERG ECUADOR S.A. Instructivos de trabajo. Protocolo de Muestreo Directo de la Superficie o Técnica Directa del Swab. Quito-Ecuador. 2010
2014-11-11

GINSBERG ECUADOR S.A. Plan de limpieza y desinfección ge-11-004.7, procesos y limpieza. Quito-Ecuador. (2014)

GINSBERG ECUADOR S.A. Protocolo de validación de limpieza por trazas de ácido ascórbico 30mg/g + ácido fólico 160 ug/g en el proceso de producción de Limerichis Plus sobres. AC-05-03-047.01. Quito-Ecuador. 2014

GINSBERG ECUADOR S.A. Validación del método analítico para ácido ascórbico 30 mg/g + ácido fólico 160 µg/g en polvo para suspensión oral. Quito Ecuador. (2014)

GONZÁLEZ, PÉREZ. C. Cromatografía Líquida. (2008)
Disponible en: http://ocw.usal.es/ciencias-experimentales/analisis-aplicado-a-la-ingenieria-quimica/contenidos/course_files/Tema_12.pdf
2014-11-03

HERNADEZ PÉREZ, J.M. Cromatografía Líquida De Alta Eficacia. Servicio de Bioquímica, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. N° 8. (2005) .Badalona. pp. 49-62 Disponible en: [file:///C:/Users/User/Downloads/2004-2005-Edu-08-Tema%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/2004-2005-Edu-08-Tema%20(3).pdf)
2014-11-03

HIDALGO RODRIGUEZ A.I. Validación del Método de Limpieza de La Envasadora de Polvos Dos Micros Después de La Producción de Bencilpenicilina Sódica En Betapharma S.A. Tesis de Grado. Escuela Politécnica Superior de Chimborazo. (2010). pp. 18-20
Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/701/1/56T00231.pdf>
2014-11-03

HERNÁNDEZ, MORENO, y otros. Tratado de medicina farmacéutica. 1er. ed. España. Médica Panamericana, S.A. (2010). pp 106-107
Disponible en: https://www.google.com.ec/search?tbm=bks&hl=es&q=tratado+medicina+farmaceutica&gws_rd=ssl.
2014-11-11

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q 2(R1).EE.UU (2005).

Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf

2014-12-01

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE. DEPARTAMENTO CONTROL NACIONAL.SUBDEPARTAMENTO DE FISCALIZACIÓN. Guía de Inspección de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) Para La Industria De Productos Farmacéuticos. Capitulo.1. Anexo 3. Santiago-Chile. (2010). pp 16-22

Disponible en: www.ispch.cl/sites/default/files/u24/Guia_Validacion_GMP.pdf

2014-11-11

INSTITUTO NACIONAL DE GESTIÓN SANITARIA, Guía De Antisépticos Y Desinfectantes, 2013. Disponible en:

http://www.ingesa.msc.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Guia_Antisepticos_desinfectantes.pdf

2014-11-11

INSTITUTO LINUS PAULING EN COLABORACIÓN CON LA UNIVERSIDAD DE CHILE. Centro de Información de Micronutrientes. (2009). Disponible en <http://lpi.oregonstate.edu/es/centroinfo/vitaminas/vitaminaC/>

2014-11-03

LAKSHMANA PRABU S, SURIYAPRAKASH T.N.K. Cleaning Validation and its importance in Pharmaceutical Industry. Dept. of Pharm. Technology, Anna University. N° 7.Vol. (42). (2010). Tiruchirappalli, Tiruchirappalli. pp. 21-25

2014-11-03

LOPEZ MARZO A.M, PIERRE MARZO R.A. Establecimiento del límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción de la industria farmacéutica. Rev. Cubana Farm. N° 3.Vol. (39). (2005). Habana-Cuba. pp. 100-103.

Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300010

2014-11-03

MAHAN L.K, ESCOTT STUMP S. Krauser Dietoterapia. 12 Ed. España. Elsiever. (2009).

Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/181519557/Krause-Dietoterapia-12-Edicion>

2014-11-11

MARTINEZ, MIRANDA, L., GARCIA LEÓN L, PEREZ SOUTO N, CHANG VALDES

A. Determinación de Trazas de Lidocaína y Epinefrina en el proceso posterior a la fabricación de Carpules. Rev Cubana Farm. N° 35.Vol. (2). (2001). Habana-Cuba. pp. 100-103

Merck KGaA. Extran Limpieza Aplicaciones. (2004)

Disponible en: <file:///C:/Users/User/Downloads/folleto-extran--detergentes-enzimatico.pdf>

2014-11-11

OMS. Comité de expertos de la OMS en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. Informe 32. (1992). pp 5, 22,32.

Disponible

en:

file:///C:/Users/User/Downloads/informe32delaOMScompleto_20130719_035626.pdf

2014-10-01

PINO, PEREZ, F. & PEREZ, BENEDITO, D. Análisis de elementos-trazas por espectroscopia de absorción molecular Uv-visible. Córdoba. Murcia. Universidad de Sevilla y Monte de Piedad y Caja de Ahorros. San Pablo. (1983). pp. 15

2014-12-10

SNYDER L.R, KIRKLAND J.J, DOLAN J.W. Introduction To Modern Liquid Chromatography. 3rd. ed. United States of America. John Wiley & Sons, Inc.(2010) pp. 529

2014-11-11

SNYDER L.R, KIRKLAND J.J. Introduction To Modern Liquid Chromatography. 2nd Ed. United States of America. John Wiley & Sons, Inc. (1979). pp. 560

2014-11-11

SECRETARIA DE SALUD SUBSECRETARIA DE REGULACIÓN Y FOMENTO.

Manual De Buenas Practicas De Higiene Y Sanidad Sanitario Dirección General De Calidad. Capítulo 8 , Capitulo 9. México D.F. (1999)

Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/capitulo8.html>

2014-11-11

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION. USP 34. NF 29. The United States Pharmacopeial. TheNationalFormulary. (2011). pp. 621.

Disponible en:

<https://mc.usp.org/sites/default/files/documents/GeneralChapterPDFs/621Chromatography.pdf>

2014-11-03

USP30–NF25. Agua para fines de farmacéuticos. (2008)

Disponible en:

file:///C:/Users/User/Downloads/reg_USP_1231_water_for_pharmaceutical_purposes.pdf

2014-11-03

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. (UNC). Levantamiento de Información: Guía de clasificación de residuos. (2008).

Disponible en: www.unalmed.edu.co/dir_laboratorios/Clasificacion_Residuos.doc

2014-12-01

UNODC. Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seize Materials and Biological Specimens. (2009)

Disponible en: http://www.unodc.org/documents/scientific/validation_E.pdf

2014

WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Good Manufacturing Practices: water forpharmaceutical use. Annex 3. No. 929. WHO Technical Report Series. (2005). Pp. 44

Disponible en: http://apps.who.int/prequal/info_general/documents/TRS929/WHO_TRS_929-Annex3.pdf

2014-11-11

WORLD HEALTH ORGANIZATION PHARMACOPOEIA LIBRARY. Methods of Analysis: High-performance liquidChromatography. Published in accordance with World Health Assembly resolution WHA3.10 (2006). Disponible

en:<http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>

2014-11-11

GLOSARIO

API	Ingrediente Farmacéutico Activo
AFNOR	Association française de Normalisation
AI	Ingesta adecuada
AU	Unidades de Absorbancia
α	Selectividad
b	Intercepto de la curva de calibración
FDA	Food and Drugs Administration
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
ICH	International Conference on Harmonisation
k'	Constante de capacidad
LAR	Límite de Aceptación de Residuos
LC	Cromatografía Líquida
LOD	Límite de detección
LOC	Límite de cuantificación
mg	Miligramos
N	Número de platos teóricos
OMS	Organización mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
PAF	Prácticas Adecuadas De Fabricación
RSD	Desviación estándar relativa
S	Desviación estándar
S/N	Señal/Ruido
μL	Microlitros

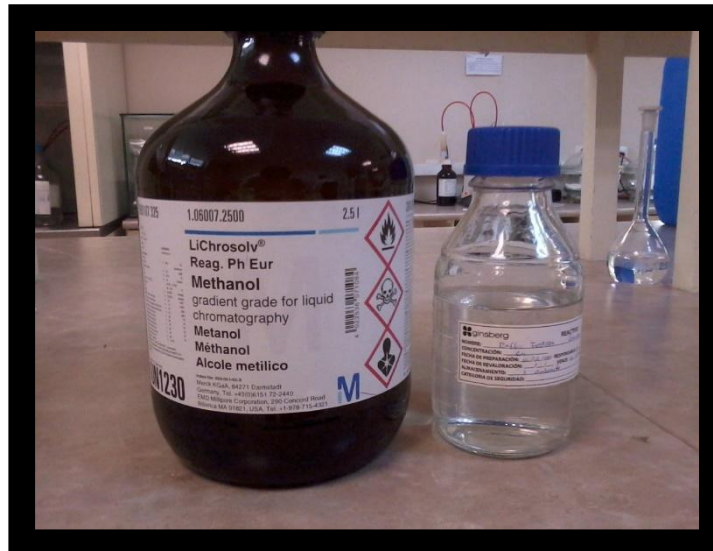
ANEXOS:

Anexo A: Equipo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) SHIMADZU ubicado en el área de control de calidad



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo B: Fase móvil buffer fosfato pH 6,4: metanol (88:12)



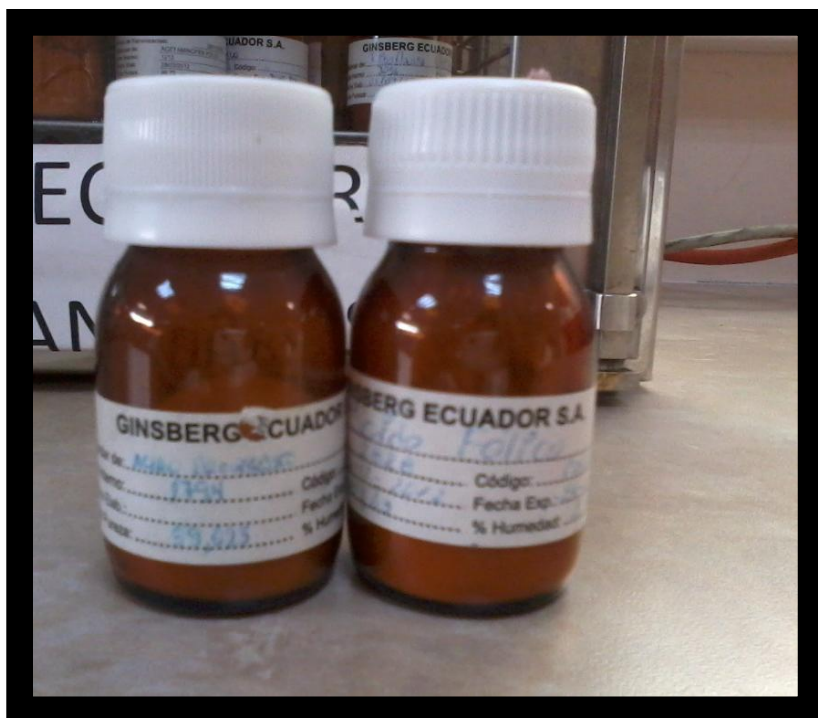
Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo C: Columna GEMINI-NX C18 5 μ M 4.6 X 50mm



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo D: Estándares de Ácido Fólico Y Ácido Ascórbico (USP)



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo E: Viales Waters Srew Top Vial, 12 X 32mm



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo F: Inspección visual de equipo desmontado Sacheteadora Effytec



Tolva Superior



Tolva 2

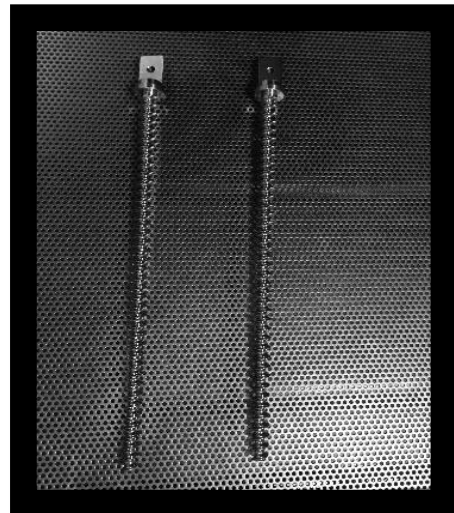
Removedor 1 y 2



Tornillo sin fin



Vaso dosificador 1 y 2



Tornillo dosificador 1 y 2

Vaso de envase 1 y 2



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo G: Inspección visual de equipo desmontado Mezclador Roenhardt (Tambor)



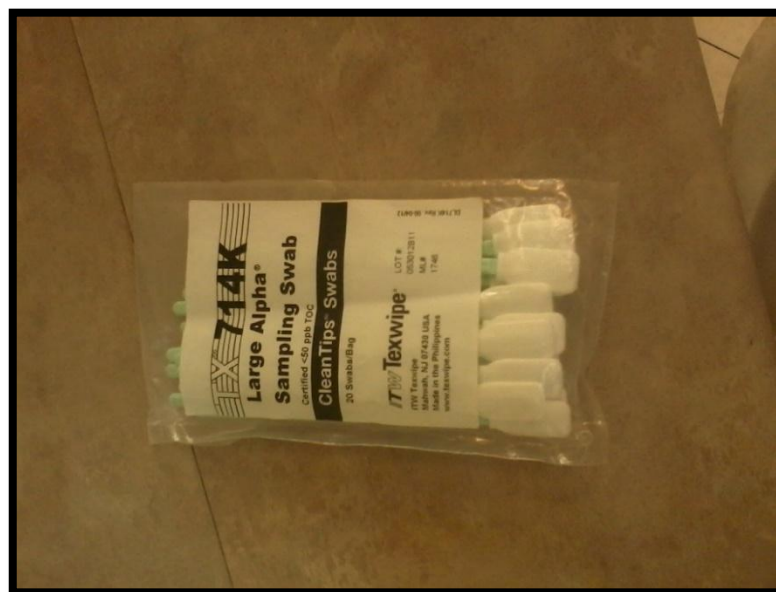
Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo H: Inspección visual del Tamizador



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo I: Hisopos de muestreo Large Alpha



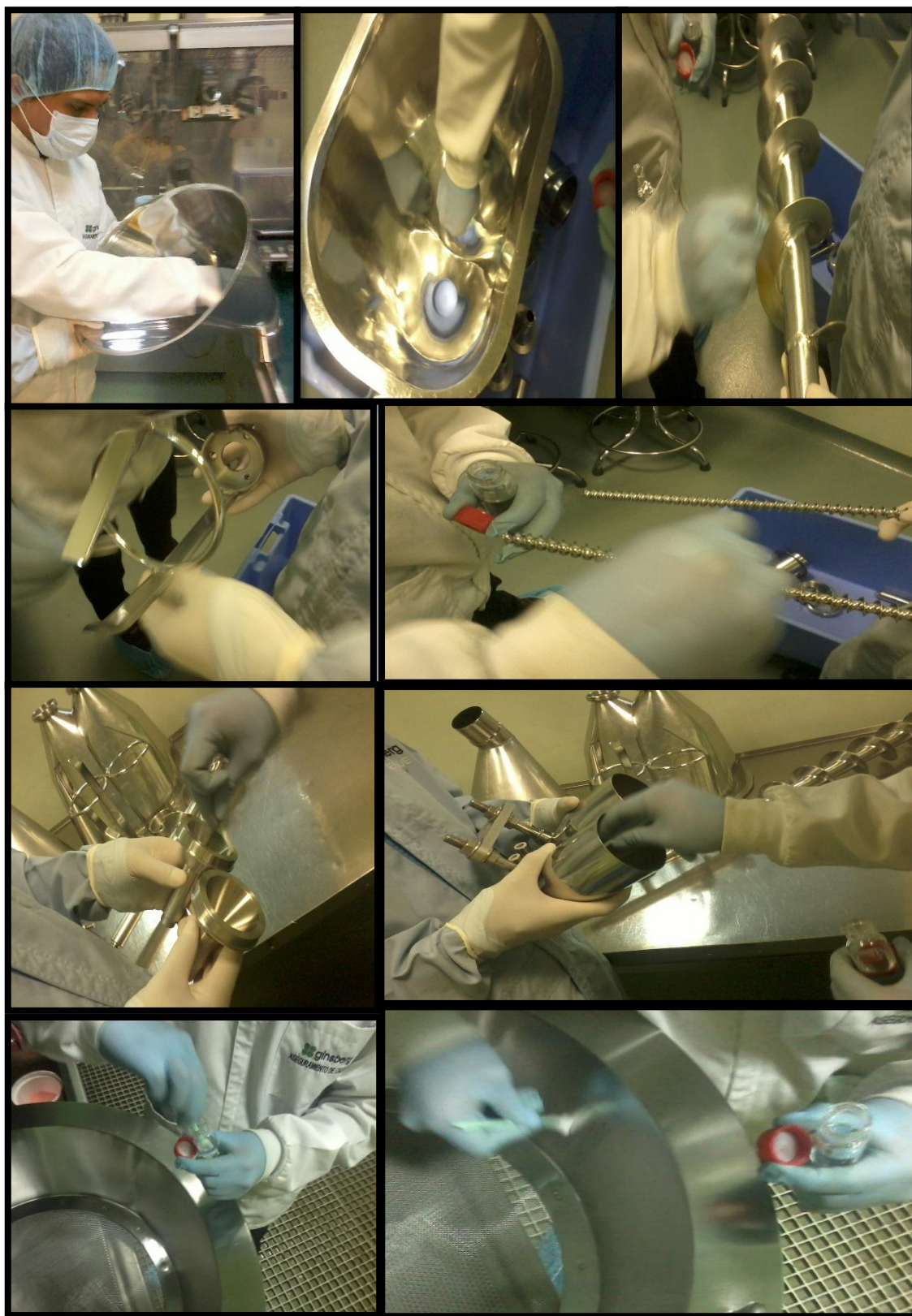
Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Anexo J: Viales prelavados libres de carbono para uso de TOC con 30ml agua tipo reactivo para determinación de TOC (conductividad $< 1\mu\text{s}$, $\text{TOC} < 0,100 \text{ ppmC}$)



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014

Fotografía 4: Proceso de muestreo por el método de hisopado directo



Fuente: Ginsberg Ecuador S.A. 2014